

МИЛЛИМЕТРОВЫЕ ВОЛНЫ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ



4 (44)
2006

В НОМЕРЕ:

*Механизмы иммуномодулирующего и
противовоспалительного действия
низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ*

*Оксид азота участвует
в реализации биологических
эффектов ММ-воздействия*

МИЛЛИМЕТРОВЫЕ ВОЛНЫ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ



Научно-практический журнал

Выходит с 1992 года

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

д.м.н. В.Н.Букатко, д.ф.-м.н. В.И.Гайдук, к.б.н. Т.И.Котровская
(ответственный секретарь), д.ф.-м.н. В.В.Кислов, к.м.н. А.Ю.Лебедева,
д.б.н. Н.Н.Лебедева (заместитель главного редактора), д.ф.-м.н.
В.Е.Любченко, д.х.н. А.К.Лященко, д.м.н. И.В.Родштат, к.ф.-м.н.
В.В.Файкин, д.ф.-м.н. А.Г.Шейн

Главный
редактор
профессор
О.В.БЕЦКИЙ



Навстречу 100-летию юбилею
академика Николая Дмитриевича Девяткова

Содержание

№ 4 (44)

2006

СТАТЬИ



Механизмы иммуномодулирующего и противовоспалительного действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот

3

Гапеев А.Б., Чемерис Н.К.

The mechanisms of immunomodulating and anti-inflammatory effects of low-intensity electromagnetic radiation of extremely high frequencies

Gapeyev A.B., Chemeris N.K.



Надмолекулярные структуры воды

25

Богданов Е.В., Мантрова Г.М.

The supermolecular structures of water

Bogdanov E.V., Mantrova G.M.



К вопросу об участии оксида азота в процессах микроволнового воздействия на биоэлектрическую активность мозга

41

Сидоренко А. В., Казакевич В. Б., Селицкий А. П.

The problem of oxide nitrogen participation in the processes of microwave action to bioelectric brain activity

Sidorenko A.V., Kazakevich V.B., Selitsky A.P.



Сочетанное применение противозипилептического препарата и миллиметровой (ММ) терапии для лечения и профилактики вторично-генерализованных приступов при эпилепсии у фармакорезистентных больных
Пашнин А. Г.

50

The treatment and prophylaxis of secondary-generalized epileptic seizure in pharmacoresistant patients by EHF therapy in combination with antiepileptic drug
Pashnin A.G.



Терагерцовые волны и перспективы их применения
Козьмин А.С., Яременко Ю.Г.
Terahertz waves and their perspective use
Kozmin A.S., Yaremenko Yu.G.

67

Учредитель: ЗАО «МТА-КВЧ»

Моховая ул., д.11, корп.7, Москва, К-9, ГСП-9, 103907

ИРЭ РАН для ЗАО «МТА-КВЧ»

Тел.: (095) 203-47-89

Факс: (095) 203-84-14

E-mail: ehf@cplire.ru

Журнал зарегистрирован в Министерстве печати и информации Российской Федерации.

Свидетельство о регистрации № 0110708 от 27 мая 1993 г.

Лицензия на издательскую деятельность № 001995, серия ИД № 01887, код 221 от 30.05.2000 года.

При перепечатке или использовании материалов ссылка
на журнал «Миллиметровые волны в биологии и медицине»
обязательна.

© Оформление ЗАО «МТА-КВЧ»

Механизмы иммуномодулирующего и противовоспалительного действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот



Гапеев А.Б., Чемерис Н.К.

Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино МО

Аналитический обзор посвящен исследованию механизмов иммуномодулирующего и противовоспалительного действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) и основан на экспериментальных и теоретических работах, выполненных при непосредственном участии авторов и опубликованных в 1999-2006 гг. Показано, что выраженное иммунотропное действие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ проявляется в модификации реакций клеточного и неспецифического иммунитета. Обнаружено, что облучение животных низкоинтенсивным ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин) приводит к изменению организации хроматина клеток лимфоидных органов, снижает интенсивность клеточного иммунного ответа в реакции гиперчувствительности замедленного типа, уменьшает фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови и не влияет на гуморальный иммунный ответ на тимусзависимый антиген. Показано, что локальное воздействие низкоинтенсивным ЭМИ КВЧ вызывает дегрануляцию тучных клеток кожи, что является важным усилятельным механизмом в реализации действия ЭМИ КВЧ на уровне организма с участием нервной, эндокринной и иммунной систем. Предложена «гистаминовая модель» биологического действия ЭМИ КВЧ на уровне организма, связывающая реакцию отдельных клеток и системную реакцию организма на ЭМИ КВЧ. Мы полагаем, что настоящий обзор будет полезен врачам и исследователям для более глубокого понимания механизмов терапевтического действия ЭМИ КВЧ и будет стимулировать дальнейшие исследования иммуномодулирующего действия низкоинтенсивных полей и излучений.

Введение

11 апреля 2007 года исполнится 100 лет со дня рождения академика Николая Дмитриевича Девяткова. Начатые под его общим руководством в 60-х годах XX века пионерские исследования биологических эффектов электромагнитного излучения крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) и заложенные им основы метода КВЧ-терапии открыли новую эру в формировании понимания роли электромагнитных полей в биологии и медицине. Обозначенные основоположниками этого нового научного направления идеи о биологической уникальности и значимости ЭМИ КВЧ, в том числе и как терапевтического средства, продолжают волновать умы широкой научной общественности. Выполненные

в последние годы оригинальные биомедицинские исследования и созданный широкий спектр терапевтической аппаратуры подтверждают целесообразность и необходимость дальнейших исследований механизмов биологического действия ЭМИ КВЧ на всех уровнях организации живых систем.

Особенности биологического действия ЭМИ КВЧ *in vitro* обычно связывают с одним или рядом его параметров [1, 2]. Однако широкий спектр объектов исследования *in vitro*, большой разброс используемых в различных работах параметров ЭМИ (частота, интенсивность, длительность экспозиции и др.) и феноменологическая направленность большинства исследований приводит к появлению огромного количества данных, которые нередко оказываются противоре-

чивыми. Вышесказанное показывает необходимость системного подхода к исследованиям механизмов биологического действия ЭМИ КВЧ в широком диапазоне параметров, с корректным дозиметрическим обеспечением, по возможности, с использованием различных экспериментальных методов анализа изменения активности объекта после воздействия ЭМИ. На первом этапе такие исследования необходимо выполнить *in vitro* с целью определения принципиальных механизмов реализации эффектов излучения на простых молекулярно-клеточных системах. Результатом таких исследований должно быть определение диапазонов физических параметров ЭМИ КВЧ, которые в контролируемых условиях при действии на определенные функции биологических систем будут наиболее эффективными. При проведении доклинических испытаний такой подход позволит определить наиболее эффективные параметры ЭМИ КВЧ для КВЧ-терапии, направленной на конкретные нозологии [3]. Мы считаем, что эффективность КВЧ-терапии можно существенно повысить, если соотнести определенные параметры ЭМИ КВЧ и типы патологических состояний. Для этого необходимы целенаправленные исследования механизмов действия ЭМИ КВЧ *in vivo* на уровне регуляторных систем организма.

С точки зрения использования ЭМИ КВЧ в терапевтической практике особый интерес представляет решение вопроса о чувствительности к ЭМИ КВЧ различных биологических процессов и систем на уровне целого организма. Анализ литературных данных показывает, что при действии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ как в норме, так и при патологии могут происходить значимые изменения в функционировании иммунной системы [4, 5]. Возможно, что ЭМИ КВЧ влияет на

скорость синтеза и баланс различных регуляторных молекул в организме, определяющих функциональный статус иммунной системы в целом.

Целью предлагаемого обзора является систематизация результатов наших работ по исследованию действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на основные реакции иммунной системы лабораторных животных. Мы считаем, что настоящий обзор будет полезен не только врачам и исследователям для более глубокого понимания механизмов терапевтического действия ЭМИ КВЧ, но и будет стимулировать дальнейшие исследования иммуномодулирующего действия низкоинтенсивных полей и излучений.

Материалы и методы

Для лучшего понимания изложенного материала и удобства чтения мы приводим краткую сводку материалов и методов, на основе которых выполнены основные экспериментальные исследования.

Биологические объекты.

Мыши-самцы (возраст 2 месяца, масса 25-30 г) аутбредного стока NMRI получены из коллекции лаб. Биологических испытаний филиала Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН (ФИБХ РАН). Все проводимые на животных процедуры были одобрены комитетом ФИБХ РАН по содержанию и использованию лабораторных животных в соответствии со стандартами Международной ассоциации по оценке и аккредитации работ с лабораторными животными (AAALAC).

Исследования действия ЭМИ КВЧ на клеточном уровне выполнены на нейтрофилах цельной периферической крови, изолированных лейкоцитах крови, спленocyтaх и тимocyтaх мыши. Общую фракцию лейкоцитов периферической крови получали

лизисом эритроцитов в изотоническом хлориде аммония. Суспензии спленоцитов и тимоцитов получали из селезенки и тимуса мышей путем гомогенизации.

Исследование дегрануляции тучных клеток кожи проводили на наркотизированных (20% хлоралгидрат, 500 мкл внутривенно) крысах линии Wistar массой 300-350 г, полученных из вивария ФИБХ РАН.

Генерирующие устройства и антенны. Дозиметрические тесты и облучение биологических объектов проводились на стендовых установках, включающих: 1) высокочастотный генератор Г4-141 ("Исток", Россия); 2) панорамный измеритель Р2-68 в комплекте с индикатором КСВН Я2Р-67 (Россия) для измерения коэффициента стоячей волны (КСВ) и ослаблений; 3) измерители мощности (термисторная головка М5-49 с ваттметром поглощаемой мощности М3-22А) и частоты (волномер Ч2-25); 4) излучатели стандартной и специальной формы (волноводный излучатель – открытый конец волновода сечением 5.2×2.6 мм без фланца, пирамидальная рупорная антенна с апертурой 32×32 мм, желобковый излучатель ЭМИ КВЧ с апертурой 17.5×12.5 мм на основе желобкового волновода, специально разработанный НПП "ПИРС" (Особое конструкторское бюро информационных технологий, Россия) для лабораторных экспериментов по облучению биологических объектов *in vitro*). Эксперименты выполнены в контролируемых условиях по параметрам действующего фактора, а также в условиях контролируемого постоянного магнитного поля, создаваемого системой катушек Гельмгольца и измеряемого с помощью ферромагнитного зонда ("Исток", Россия).

Облучение животных ЭМИ КВЧ проводили без фиксации в пластиковых контейнерах размером 100×

100×130 мм, которые помещали в дальней зоне пирамидальной рупорной антенны с апертурой 32×32 мм. Ширина диаграммы направленности используемой рупорной антенны составляет $2\theta_{0.1}^E \approx 24.7^\circ$, что соответствует ширине основного лепестка около 130 мм на расстоянии 300 мм от излучающего торца антенны [6, 7]. Площадь дна контейнера для животных соответствовала площади зоны облучения, создаваемой основным лепестком антенны. Излучение было направлено сверху вниз. Для исключения интерференции в плоскости объекта между контейнером с животными и полом располагали эффективный многослойный поглотитель ЭМИ КВЧ. При ППМ 100 мкВт/см² (выходная мощность генератора около 8 мВт) расчетное значение УПМ на поверхности кожи мыши составляет около 1.5 Вт/кг [8]. Для контрольных животных проводили процедуры имитации воздействия, для чего мышей помещали в зону облучения при включенном высокочастотном генераторе, но отсутствии мощности на выходе излучателя. Фоновая индукция геомагнитного поля составляла 45 ± 5 мкТл.

Облучение клеточных суспензий проводили в специальных пластиковых плоскодонных кюветах цилиндрической формы ($\varnothing = 10$ мм, толщина стенок и дна 0.2-0.3 мм) в дальней зоне желобкового излучателя. При помещении суспензии в кювету клетки оседали на дно и представляли собой слой толщиной менее 50 мкм, общая высота столба раствора в кювете составляла 2 мм. Одновременно облучали 3-6 кювет в специальном пенопластовом держателе при комнатной температуре 20-22°C. Ширина диаграммы направленности желобкового излучателя составляет $2\theta_{0.1}^E \approx 28^\circ$, что соответствует ширине основного лепестка около 200 мм на расстоянии

400 мм от излучающего торца антенны [6, 7]. Площадь держателя для кювет соответствовала площади зоны облучения, создаваемой основным лепестком антенны. В качестве контрольных использовали 3-6 кювет, находящихся в аналогичных условиях за исключением облучения.

Методы оценки статуса иммунной системы животных. Для оценки иммуностропного действия ЭМИ КВЧ мы применяли методы, рекомендованные Министерством здравоохранения РФ, Департаментом контроля качества, эффективности и безопасности лекарственных средств, Научным центром экспертизы и государственного контроля лекарственных средств и Фармакологическим государственным комитетом [9, 10]. Для оптимизации исследований мы модифицировали ряд стандартных морфологических методов и методов анализа иммунитета.

Интенсивность гуморального иммунного ответа оценивали на 5-е сутки после иммунизации мышей эритроцитами барана (ЭБ) по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке методом локального гемолиза в теле агарозы по Ерне и титрам гемагглютинирующих антител (ТГА) [11]. Определяли число ядросодержащих клеток (ЯСК) в селезенке, тимусе и красном костном мозге [12]. Показатели опытной группы животных сравнивали с соответствующими показателями контрольной группы и выражали в процентах.

Интенсивность клеточного иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Рассчитывали индекс воспаления (ИВ) - относительное увеличение толщины воспаленной конечности по сравнению с контралатеральной, выраженное в процентах [10].

Для оценки фагоцитарной активности (ФА) нейтрофилов перифе-

рической крови и перитонеального экссудата в качестве объекта фагоцитоза использовали *E.coli* (штамм E15). При помощи световой микроскопии определяли процентное содержание фагоцитировавших клеток из числа потенциальных фагоцитов (процент фагоцитоза) [13].

Модель острого воспаления была разработана нами на основе литературных данных по зимозан-индуцированному воспалению у мышей [14]. Воспалительную реакцию (ВР) вызывали инъекцией суспензии зимозана под апоневроз левой задней конечности. Интенсивность воспаления оценивали на 3-8 ч после индукции ВР по величине экссудативного отека и гипертермии воспаленной конечности. Величину экссудативного отека рассчитывали как относительное увеличение толщины левой стопы по сравнению с правой, выраженное в процентах. Температуру области воспаления измеряли инфракрасным датчиком температуры (Россия) с точностью $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$. Уровень гипертермии рассчитывали как разность температур воспаленной и контралатеральной конечности.

Фармакологический анализ противовоспалительного действия ЭМИ КВЧ. Облучение животных ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см²) или имитацию воздействия проводили в течение 20 мин через 1 ч после индукции ВР в модели острого воспаления. Диклофенак натрия (ДН) в дозах 2, 3, 5, 10 и 20 мг/кг или клемастин (КМ) в дозах 0.02, 0.1, 0.2, 0.4 и 0.6 мг/кг вводили животным интраперитонеально через 30 мин после индукции ВР. Дозы препаратов были выбраны в соответствии с рекомендованной дозировкой для человека [10]: максимальная суточная доза ДН для мыши соответствует 25 мг/кг, средняя доза КМ в пересчете на мышь соответствует 0.34 мг/кг. При исследовании совме-

стного действия лекарственных препаратов и ЭМИ КВЧ препараты вводили через 30 мин, а облучение ЭМИ КВЧ проводили через 1 ч после индукции ВР. В каждом эксперименте использовали несколько групп животных по 3-5 животных в каждой группе, включая группу контрольных животных, которые получали инъекции физиологического раствора и процедуры имитации облучения ЭМИ КВЧ. Данные для животных, получавших различные воздействия, сравнивали с показателями контрольных животных и выражали в процентах от контроля.

Модель полнослойных кожных ран. Раневой процесс воспроизводили в межлопаточной области мышц методом иссечения полнослойного кожного лоскута площадью около 70 мм² с повреждением подлежащей фасции и мышечного слоя под эфирным наркозом. Животных опытной группы тотально облучали ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин/сут) в течение 10 суток после операции. Контрольных животных подвергали процедурам имитации воздействия. Эксперимент проводился по условиям "двойного слепого контроля". Динамику процесса заживления определяли по изменению площади раневого дефекта, который ежедневно фотографировали с помощью цифровой фотокамеры Nikon Coolpix 990 (Япония).

Световая и электронная микроскопия кожи крысы. После локального облучения ЭМИ КВЧ подушечки лапы крысы или имитации воздействия из образцов кожи готовили серийные полутонкие или ультратонкие (70-90 нм) срезы на ультрамикротоме "Reichert" (Austria). Срезы окрашивались и анализировались на световом микроскопе или в электронном микроскопе JEOL 100B (Япония). Эксперимент проводился по условиям "двойного слепого контроля". Для ко-

личественного анализа подсчитывали число гранул на профиль тучной клетки для 2-3 проекций клеток, выбранных случайным образом на каждом из срезов. После идентификации образцов строили суммарные гistogramмы распределений тучных клеток по количеству гранул на профиль клетки для контрольных и облученных образцов.

Статистический анализ. Все результаты представлены в виде «среднее значение \pm стандартная ошибка», рассчитанные по n независимым экспериментам. При сравнительном анализе различных групп данных сначала проверялась гипотеза о нормальном распределении с использованием теста Колмогорова-Смирнова. Если данные удовлетворяли нормальному распределению, то статистический анализ проводился с использованием параметрического t -критерия Стьюдента. В противном случае использовали непараметрические методы статистики: U -критерий Манна-Уитни для парного сравнения двух групп данных или критерий Крускала-Уоллиса для попарного сравнения нескольких групп данных. Различия считали достоверными по уровню значимости $p < 0.05$.

Иммуномодулирующие эффекты ЭМИ КВЧ

К настоящему времени рядом исследователей показано, что низкоинтенсивное ЭМИ КВЧ может изменять показатели иммунной и нейроэндокринной систем организма [4, 15]. Иммунная система выполняет особую роль в поддержании нормального функционирования организма, она контролирует целостность и генетическую однородность организма, участвует во всех патологических и репаративных процессах [16, 17]. Количественные соотношения и взаимодействия между клетками иммунной систе-

мы, формирование определенного цитокинового профиля и функциональная активность различных клеток иммунной системы поддерживаются многочисленными положительными и отрицательными обратными связями. Низкоинтенсивное ЭМИ КВЧ, оказывая регуляторное действие, способно модифицировать функции иммунной системы, что является одним из основных механизмов коррекции состояния организма [5]. Нашей задачей являлось определение изменений в активности базовых реакций гуморального, клеточного и неспецифического иммунитета на воздействие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ с параметрами, эффективность которых в отношении клеток иммунной системы *in vitro* была продемонстрирована нами ранее [6].

1. Действие ЭМИ КВЧ на гуморальный иммунный ответ

Действие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см²) на специфические механизмы защиты организма (адаптивный иммунитет) исследовали в модели развития гуморального иммунного ответа на тимус-зависимый антиген (ЭБ). Животных облучали до иммунизации (однократно в течение 20 мин, 5 сут. по 20 мин/сут, 20 сут. по 20 мин/сут) и после иммунизации (в течение 5 сут. по 20 мин/сут). После однократного облучения и серии воздействий в течение 5 суток показатели гуморального иммунного ответа (ТГА и число АОК) и число ЯСК в лимфоидных органах достоверно не изменялись. Эти результаты свидетельствуют о том, что облучение животных ЭМИ КВЧ не вносит заметных изменений в механизмы восприятия антигена организмом и не влияет на формирование иммунного ответа по гуморальному пути [18]. После длительного фрак-

ционированного облучения до иммунизации (в течение 20 сут. по 20 мин/сут) было обнаружено снижение числа ЯСК в тимусе и селезенке на $18 \pm 5\%$ и $14 \pm 4\%$ соответственно ($p < 0.05$ по сравнению с контролем), что может объясняться адаптогенным действием ЭМИ КВЧ [4]. Эффективность длительных курсов облучения в отношении выживаемости животных после воздействия γ -излучения и гриппозной инфекции показана в ряде работ [19, 20].

Учитывая, что число АОК в селезенке не изменялось, можно предположить, что снижение числа ЯСК селезенки происходило не за счет пула В-лимфоцитов. Снижение числа ЯСК тимуса свидетельствует о чувствительности Т-лимфоцитов к низкоинтенсивному ЭМИ КВЧ. Это соответствует представлениям об эффективном влиянии ЭМИ КВЧ на клеточноопосредованный иммунитет при различных патологиях [15]. Наши результаты указывают на *кумулятивный* характер эффекта ЭМИ КВЧ на уровне целого организма, т.е. на наличие в организме механизмов накопления и сохранения информации о воздействии. Процесс восприятия ЭМИ КВЧ организмом, видимо, носит системный характер и может включать реакцию со стороны нейроэндокринной системы с изменением содержания или синтеза биологически активных веществ (гормонов, цитокинов, нейромедиаторов) [5]. Снижение числа ЯСК в тимусе и селезенке при хроническом облучении животных низкоинтенсивным ЭМИ КВЧ может быть связано как с миграцией клеток за пределы лимфоидных органов, так и с изменениями на уровне генома клеток (нарушения клеточного цикла, апоптотические процессы). Поэтому в следующей серии экспериментальных исследований мы оценивали действие ЭМИ КВЧ на состояние хроматина клеток лимфоидных органов.

2. Влияние ЭМИ КВЧ на структуру хроматина лимфоидных клеток

Активность клеток иммунной системы во многом определяется скоростью их мобилизации, уровнем экспрессии и репертуаром клеточных рецепторов. Считается, что ЭМИ КВЧ способно воздействовать на генетический аппарат клеток, изменять структуру и функции хромосом, клеточную устойчивость к стандартным мутагенам и повреждающим воздействиям [21-23]. Для оценки влияния низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на уровне хроматина клеток мы использовали экспресс метод молекулярной эпидемиологии "комета-тест", позволяющий обнаружить повреждения ДНК и изменения структуры ДНК нуклеоида [24, 25]. Модификации щелочной версии "комета-теста" [26, 27] позволили нам существенно повысить чувствительность метода, которая в отношении метилметансульфоната, известного алкилирующего агента, оказалась на порядок выше по сравнению с существующими аналогами, что позволило надежно регистрировать даже слабые изменения структуры хроматина [28].

При облучении животных ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин) мы обнаружили разнонаправленные эффекты на клетки лимфоидных органов. ЭМИ КВЧ индуцировало конденсацию хроматина в тимоцитах, происходило увеличение интенсивности флуоресценции нуклеоидов (ИФН) на 16% ($p < 0.03$), и деконденсацию хроматина в спленоцитах, происходило уменьшение ИФН на 16% ($p < 0.001$) по сравнению с клетками контрольных животных [28]. Однако ЭМИ КВЧ не влияло на структуру хроматина лейкоцитов периферической крови *in vivo*.

Для оценки прямых эффектов излучения мы исследовали действие ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 50 мкВт/см², 20

мин) на структуру хроматина клеток *in vitro*. Облучение культуры человеческих лимфоидных клеток *Raji* и общей фракции лейкоцитов периферической крови мыши вызвало уменьшение ИФН на $22.6 \pm 2.3\%$ ($p < 0.005$) и $17.6 \pm 2.7\%$ ($p < 0.001$) соответственно. Одинаковая направленность эффектов ЭМИ КВЧ на различные клетки *in vitro* свидетельствует о наличии одного механизма реализации воздействия, вероятно, связанного с влиянием на системы внутриклеточной сигнализации [29, 30]. Отсутствие эффекта ЭМИ КВЧ на структуру хроматина лейкоцитов периферической крови *in vivo* и наличие эффекта *in vitro* показывает, что реакция клеток на действие излучения сильно зависит от их функционального состояния. Разнонаправленная реакция клеток тимуса и селезенки при отсутствии эффекта ЭМИ КВЧ на лейкоциты периферической крови при облучении *in vivo* позволяют сделать предположение о том, что эффект ЭМИ КВЧ на лимфоидные органы, вероятно, реализуется не прямым образом, а при участии регуляторных систем организма, и может быть объяснен различной иннервацией лимфоидных органов, различным популяционным составом лейкоцитов и специфическим репертуаром клеточных рецепторов тимоцитов и спленоцитов [31]. Таким образом, мы полагаем, что в основе механизмов наблюдаемых эффектов ЭМИ КВЧ на ДНК лимфоидных клеток *in vitro* и *in vivo* лежит физиологическая реакция клеток на различные неповреждающие ДНК агенты (биологически активные вещества), которые могут индуцироваться при облучении [32]. В связи с этим реакции клеточного иммунитета, как наиболее мобильного звена иммунной системы, должны быть потенциально более чувствительны к воздействию низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ.

3. Действие ЭМИ КВЧ на клеточный иммунный ответ

Влияние ЭМИ КВЧ на клеточноопосредованный иммунитет оценивали в реакции ГЗТ. Животных сенсibilизировали ЭБ и через 1 ч животных опытной группы облучали ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², по 20 мин/сут в течение 5 сут) до разрешающей инъекции. Для животных контрольной группы проводили процедуры имитации воздействия. По истечении 4-х суток вводили разрешающую дозу антигена (ЭБ). Сенсibilизирующая инъекция вызывала локальную неспецифическую воспа-

лительную реакцию левой конечности. На 3-4 сутки после сенсibilизирующей инъекции у контрольных животных было зарегистрировано увеличение толщины левой стопы в среднем до $6.2 \pm 1.9\%$, в то время как у облученных животных ВР была практически не выражена – ИВ составлял $0.5 \pm 1.2\%$ ($p < 0.01$ по сравнению с контролем). Через 24 ч после разрешающей инъекции у облученных животных ИВ увеличивался до $15 \pm 3\%$, что было достоверно ($p < 0.05$) меньше по сравнению с контрольными животными, у которых ИВ был равен в среднем $22 \pm 2\%$ (рис. 1).

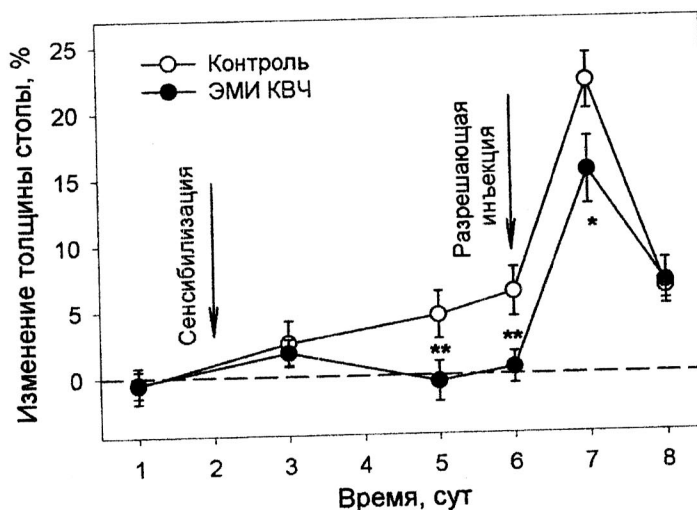


Рис. 1. Относительное изменение толщины стопы (индекса воспаления) у контрольных ($n=14$) и облученных ($n=14$) животных в реакции ГЗТ. Сенсibilизирующая инъекция ЭБ произведена во 2 сутки эксперимента, разрешающая – на 6 сутки. На 2-6 сутки животных подвергали имитации воздействия и облучали ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин/сут). * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$ по критерию Стьюдента.

Через 48 ч развития ГЗТ отек спадал и ИВ в опытной и контрольной группах животных составлял около 6.5%. Таким образом, мы показали, что ЭМИ КВЧ практически полностью (на $92 \pm 19\%$ по отношению к контролю) подавляет неспецифическое воспаление; специфическое воспаление в реакции ГЗТ снижается под действием

ЭМИ КВЧ на $30 \pm 12\%$ по отношению к контролю, что может быть обусловлено более сложным каскадом реакций, обеспечивающих специфический воспалительный процесс. Важно, что снижение интенсивности воспаления под действием ЭМИ КВЧ, обнаруженное нами на этапе сенсibilизации, сохраняется и после введения разре-

шающей дозы антигена (рис. 1). Подавление неспецифического воспаления и снижение интенсивности специфического воспаления при действии ЭМИ КВЧ в наших условиях может происходить за счет снижения функциональной активности фагоцитов, поскольку основными клетками, участвующими в развитии реакции ГЗТ, наряду с Т-эффекторами ГЗТ, являются макрофаги [33]. В целом мы показали, что ЭМИ КВЧ снижает интенсивность клеточноопосредованного иммунного ответа мышей (реакции Т-клеточного звена иммунной системы) [34, 35].

4. Противовоспалительное действие ЭМИ КВЧ

Воспалительная реакция является первым уровнем реакций иммунного ответа. Суть этой реакции состоит в привлечении к месту внедрения чужеродных агентов клеток иммунной системы (нейтрофилов, моноцитов и макрофагов, а затем и лимфоцитов) и их активации. Обнаруженный нами эффект значительного снижения неспецифической ВР при действии ЭМИ КВЧ в реакции ГЗТ побудил нас

к дальнейшему исследованию влияния ЭМИ КВЧ на развитие неспецифического воспаления.

С этой целью мы использовали модель острого воспаления, которое вызывали инъекцией зимозана (5 мг/мл) под апоневроз задней конечности мыши. Животных облучали ЭМИ КВЧ в течение 20 мин через 1 ч после инъекции зимозана. Интенсивность ВР у контрольных и облученных животных оценивали по величине экссудативного отека и гипертермии области воспаления на 3-8 ч развития воспалительного процесса. Мы обнаружили, что облучение животных приводило к уменьшению экссудативного отека на 13-25% ($p < 0.01$) по сравнению с контролем на 3-6 ч развития ВР (рис. 2А). Достоверное снижение гипертермии по сравнению с контролем было зафиксировано в различных сериях экспериментов только на 3-4 ч развития ВР (рис. 2Б). Усредненная величина эффекта ЭМИ КВЧ на 3-7 ч развития ВР составляет около 20% ($p < 0.01$ от уровня в контроле) в отношении снижения как экссудативного отека, так и гипертермии области воспаления [36, 37].

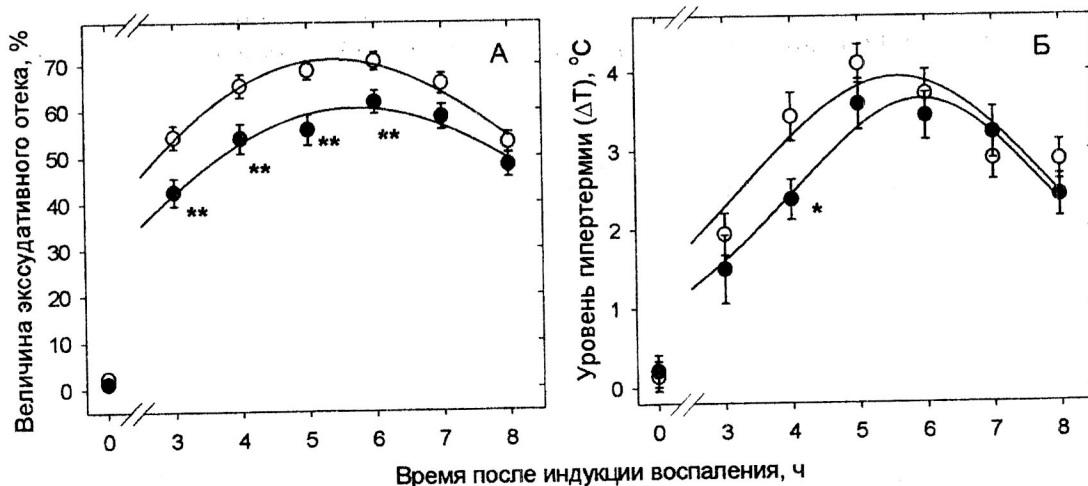


Рис. 2. Динамика величины экссудативного отека (А) и гипертермии (Б) области воспаления после индукции ВР зимозаном: (о-о) у контрольных животных; (•••) животных, облученных ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин). $n > 12$, * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$ по критерию Стьюдента.

Учитывая, что в течение первых суток в воспалительном экссудате присутствуют в основном нейтрофилы [38], мы предположили, что наблюдаемое нами снижение интенсивности неспецифического воспаления при действии ЭМИ КВЧ происходит за счет модификации функциональной активности фагоцитирующих клеток.

5. Влияние ЭМИ КВЧ на реакции неспецифического иммунитета

Фагоцитирующие клетки, находясь в капиллярах кожи, попадают под непосредственное действие излучения. Мы исследовали ФА нейтрофилов периферической крови и воспалительного экссудата после облучения животных ЭМИ КВЧ. Для определения фоновой ФА нейтрофилов в течение 2-х суток до облучения проводили процедуры имитации воздействия ЭМИ КВЧ (20 мин/сут) и процедуры забора крови (30 мкл) из хвостовой вены животных. На 3 сутки животных облучали ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин) и забирали кровь через 30 мин, 1 и 3 ч. Было установлено, что ФА нейтрофилов периферической крови животных не менялась в течение 2 суток перед облу-

чением, т.е. процедуры забора крови, равно как и имитация воздействия, не оказывали существенного влияния на ФА нейтрофилов. Через 30 мин после облучения животных ЭМИ КВЧ мы зарегистрировали почти 2-х кратное подавление ФА нейтрофилов ($p < 0.05$) по сравнению с показателями той же группы животных до облучения (табл.1). Эффект сохранялся в течение 3 ч после облучения и существенно не изменялся через сутки после воздействия [39, 40]. Мы полагаем, что изменения ФА обусловлены быстрым запуском функциональных перестроек на уровне внутриклеточных сигнальных систем нейтрофилов, что приводит к ингибированию фагоцитоза [40].

Мы показали, что прямое действие ЭМИ КВЧ на образцы цельной крови *in vitro* не вызывало изменения ФА нейтрофилов (табл.1). Сравнение результатов, полученных при облучении *in vivo* и *in vitro*, позволяет заключить, что восприятие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ организмом носит системный характер. Мы предполагаем, что эффект излучения *in vivo* может быть опосредован изменением содержания биологически активных веществ в плазме крови [35, 39].

Таблица 1
Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов при действии ЭМИ КВЧ в норме и на фоне воспалительной реакции. * - $p < 0.05$ по критерию Стьюдента

ФА нейтрофилов после воздействия ЭМИ КВЧ (% контроля)				
Норма			Воспалительная реакция	
Нейтрофилы периферической крови			Перитонеальные нейтрофилы	
<i>in vivo</i> ($n = 12$)	<i>in vitro</i> ($n = 9$)	<i>in vitro</i> ($n = 14$)	в среде смыва ($n = 14$)	после отмывания ($n = 14$)
57±9*	105±6	98±12	109±6	86±5*

При исследовании изменений ФА нейтрофилов периферической крови под действием ЭМИ КВЧ на

фоне ВР, вызванной введением суспензии зимозана в перитонеальную полость мышей, было обнаружено, что

облучение животных ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мВт/см², 20 мин) или его имитация на фоне ВР не изменяло ФА нейтрофилов периферической крови (табл. 1). ФА перитонеальных нейтрофилов после действия ЭМИ КВЧ также достоверно не отличалась от контроля при постановке реакции фагоцитоза в среде смыва (табл. 1). Однако после отмывания перитонеальных клеток от белков воспалительного экссудата ФА нейтрофилов облученных животных была ниже на $13.7 \pm 4.5\%$ ($p < 0.05$) по сравнению с показателем контрольной группы (табл. 1).

Анализ кинетики продукции АФК нейтрофилов показал, что у клеток облученных животных (при воздействии ЭМИ КВЧ после индукции ВР) подавлена первая фаза респираторного взрыва, связанная с активацией NADPH-оксидазы при участии протеинкиназы С и быстрой мобилизации $[Ca^{2+}]_i$, и снижена вторая, связанная с входом внеклеточного кальция [36]. Таким образом, ЭМИ КВЧ способно существенно снижать активность фагоцитирующих клеток (ФА и продукцию АФК нейтрофилов), что обусловлено изменениями на уровне систем внутриклеточной сигнализации. Логично предположить, что изменения на уровне внутриклеточных сигнальных систем фагоцитирующих клеток, вероятно, отражаются и на других функциях этих клеток – процессах дегрануляции, синтеза и секреции воспалительных цитокинов и т.д. В целом, противовоспалительный эффект ЭМИ КВЧ может быть обусловлен именно изменением функциональной активности фагоцитирующих клеток [35].

6. Дегрануляция тучных клеток кожи под действием ЭМИ КВЧ

Считается, что структурные элементы кожи могут исполнять роль пер-

вичных рецепторов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ [5]. В коже содержится большое количество нервных окончаний, через тучные клетки кожи осуществляется сложный каскад биохимических реакций, обеспечивающий синдром боли; тучные клетки содержат гистамин и ряд других биологически активных веществ [41]. Ранее было показано, что облучение ЭМИ КВЧ (42, 52 и 60 ГГц, 50 мВт/см², 5 мин) кожи крысы (перегрев на поверхности кожи 3–4°C) вызывает дегрануляцию тучных клеток дермы, вазодилатацию капилляров и изменения в структуре миелина инкапсулированных нервных окончаний [42, 43]. Мы поставили задачу провести качественный и количественный анализ морфологических изменений тучных клеток кожи при действии ЭМИ КВЧ низких интенсивностей, не вызывающих нагрева облучаемого объекта.

Внутреннюю поверхность кисти лапы крысы облучали ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 50 мкВт/см², 20 мин) в дальней зоне желобкового излучателя; остальную часть тела крысы экранировали от ЭМИ КВЧ эффективным многослойным поглотителем. Для крыс контрольной группы проводили процедуры имитации воздействия. Через 15 мин после облучения или имитации воздействия брали биопсию участка облученной кожи животного.

Было обнаружено, что после действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ наблюдалась дегрануляция тучных клеток кожи. Среднее число гранул на профиль тучной клетки в контроле составило 62 ± 2 ($n = 137$), в опыте – 52 ± 2 ($n = 146$) ($p < 0.0001$). Для контрольных образцов распределение тучных клеток по количеству гранул на профиль клетки напоминает нормальное распределение Гаусса (рис. 3).

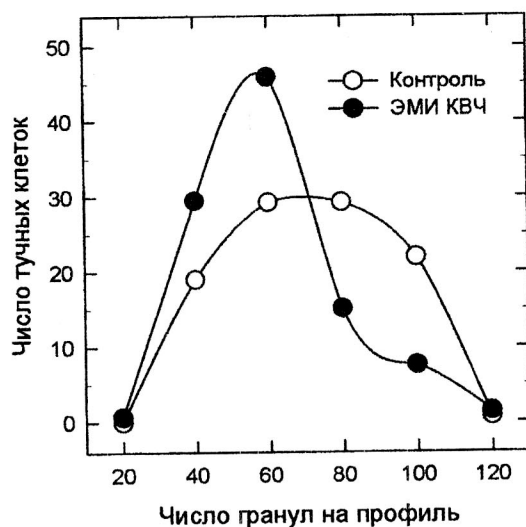


Рис. 3. Гистограммы распределения тучных клеток по числу гранул на профиль клетки в контрольных и облученных ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 50 мкВт/см², 20 мин) образцах.

Для облученных образцов максимум распределения смещается в сторону меньшего числа гранул на профиль клетки. Это свидетельствует о дегрануляции тучных клеток, содержащих наибольшее количество гранул, или наиболее зрелых тучных клеток [44]. Необходимо отметить, что *in vitro* не удастся инициировать заметной дегрануляции выделенных перитонеальных тучных клеток крыс при действии излучений видимого (630 нм) и КВЧ-диапазонов [45]. Однако *in vivo* дегрануляция тучных клеток наблюдается при действии на кожу низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ и лазерного излучения (632 или 820 нм) [46]. Таким образом, не исключено, что дегрануляция тучных клеток *in vivo* под действием ЭМИ КВЧ является следствием цепи процессов, запускаемых излучением в коже (организме), а не результатом его прямого действия на тучные клетки, которые могли бы играть роль первичной клеточной мишени. Пусковым механизмом может быть образование АФК, перекиси водорода и свободных радикалов в коже при действии ЭМИ КВЧ, возможность чего

была продемонстрирована в модельных системах [47, 48].

7. Влияние ЭМИ КВЧ на регенерацию полнослойных кожных ран

Высвобождение гистамина из тучных клеток кожи под действием низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ может играть важную роль в течении различных воспалительных процессов. Известно, что гистамин, попадая в микроциркуляторное русло кровотока, наряду с провоспалительными сосудистыми эффектами вызывает противовоспалительные клеточные эффекты [49]. Как результат, в очаге воспаления усиливаются микроциркуляция, кровоснабжение и процессы энергетического и пластического обмена и снижается цитотоксическая активность лейкоцитов, ограничивая повреждение собственных тканей продуцируемыми АФК. Все это может привести к положительной динамике местного воспалительного ответа на рану в период восстановительной фазы раневого заживления.

Мы исследовали влияние излучения на динамику сокращения раневой поверхности при посттравматической регенерации кожи на спине мышей. После нанесения полнослойной кожной раны животных опытной группы облучали ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², 10 сут по 20 мин/сут). Для животных контрольной группы проводили процедуры имитации воздействия. В результате развития воспалительного процесса на 3-6 сутки площадь раневой поверхности у контрольных животных была увеличена в среднем на 30% по сравнению с исходным размером (рис. 4). Воспалительный процесс у облученных животных был выражен слабо - раны были сухими и чистыми, с ровными

краями. Площадь раневой поверхности практически не увеличивалась, что на 4-5 сутки достоверно ($p < 0.05$) отличалось от контроля (рис.4). В последующем площадь раневого дефекта и окончательные сроки заживления ран у контрольных и опытных животных в среднем не отличались, однако у облученных животных происходило более раннее созревание грануляционной ткани, упорядочивание ее структуры, увеличение количества зрелых коллагеновых волокон с постепенным полноценным восстановлением эпителия [50]. Общее состояние опытных животных было значительно лучше, чем контрольных, что отражалось в их более активном поведении и интенсивном потреблении воды и пищи.

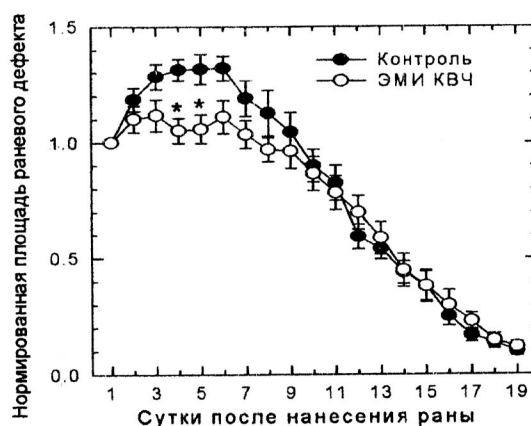


Рис. 4. Динамика площади раневой поверхности у контрольных и облученных ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин/сут) животных. $n = 10$, * - $p < 0.05$ по критерию Стьюдента.

Таким образом, мы показали, что ЭМИ КВЧ снижает интенсивность воспалительного процесса, возникающего в области повреждения. На основании полученных данных можно предположить, что именно начальная цепочка реакций организма на облучение ЭМИ КВЧ, включая выброс биологически активных веществ из тучных клеток, приводит в последующем к снижению остроты ВР, облегчению течения патологического про-

цесса и тем самым созданию благоприятных условий для нормализации нарушенных функций.

8. Фармакологический анализ противовоспалительного действия ЭМИ КВЧ

Полученные нами результаты свидетельствуют, что изменение функциональной активности нейтрофилов в очаге воспаления (снижение ФА и продукции АФК) является клю-

чевым механизмом снижения интенсивности ВР под действием ЭМИ КВЧ [35]. С целью исследования механизмов реализации противовоспалительных эффектов ЭМИ КВЧ мы провели сравнительный анализ действия излучения с эффектами известного нестероидного противовоспалительного средства (НПВС) диклофенака натрия и антигистаминного препарата клемастина в модели острого воспаления у мышей.

Влияние диклофенака натрия и совместное действие диклофенака натрия и ЭМИ КВЧ на воспалительную реакцию. Известно, что ДН обратимо ингибирует один из ключевых ферментов ВР - циклооксигеназу (ЦОГ) и тем самым снижает продукцию простагландинов, участвующих в большинстве воспалительных реакций [51, 52]. Мы обнаружили, что ДН (2-20 мг/кг) оказывал значимые дозозависимые эффекты и снижал как экссудацию, так и гипертер-

мию области воспаления (рис. 5) [37]. Начиная с дозы ДН 5 мг/кг, его эффект в отношении экссудативного отека выходит на плато и в среднем составляет около 26% ($p < 0.01$) относительно контроля (рис. 5А).

Сравнительный анализ показал, что динамика эффектов ЭМИ КВЧ и ДН в дозах 3-5 мг/кг на экссудативный отек и гипертермию области воспаления практически совпадает. При этом облучение животных ЭМИ КВЧ снижает интенсивность ВР на 20%, т.е. приблизительно на ту же величину, что и ДН в дозах 3-5 мг/кг (рис. 5), которые близки к однократной терапевтической дозе препарата. Исходя из этого, можно предположить, что противовоспалительные эффекты ЭМИ КВЧ, подобно эффектам ДН, прямо или косвенно реализуются через ингибирование активности ЦОГ. Для проверки этого предположения, мы исследовали совместное действие ДН и ЭМИ КВЧ.

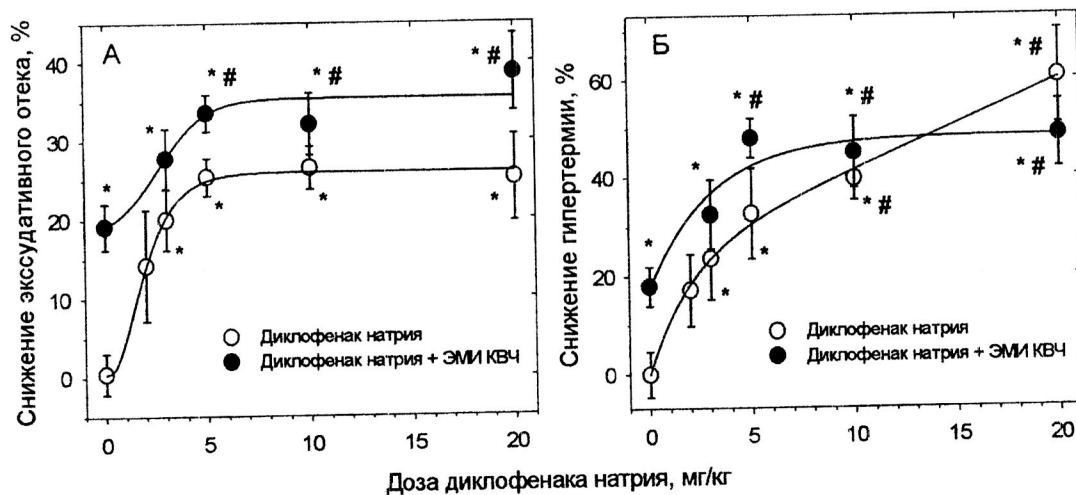


Рис. 5. Снижение величины экссудативного отека (А) и гипертермии (Б) воспаленной конечности в зависимости от дозы диклофенака натрия у (-○-) необлученных животных и (-●-) животных, облученных ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин). $n = 6-44$; * - $p < 0.02$ от контроля (ДН в дозе 0 мг/кг), # - $p < 0.03$ от величины эффекта ЭМИ КВЧ.

При совместном действии ДН в дозе 3 мг/кг и ЭМИ КВЧ происходило

снижение экссудативного отека, соответствующее эффекту ДН в дозах 5-20

мг/кг (рис. 5А). Однако при совместном действии ДН в дозах 5-20 мг/кг и ЭМИ КВЧ мы также наблюдали частичный аддитивный эффект (рис. 5А). Совместный эффект ДН в дозах 5-20 мг/кг и ЭМИ КВЧ практически не зависел от дозы ДН и в среднем составлял около 35%, что превышало эффект одного ДН в среднем на 10% ($p < 0.04$). Совместный эффект ДН в дозах 3-5 мг/кг и ЭМИ КВЧ на гипертермию имел аддитивный характер, а на фоне ДН в дозах 10 и 20 мг/кг при значительном подавлении гипертермии под действием ДН эффект ЭМИ КВЧ не проявлялся (рис. 5Б).

Полученные результаты позволяют предположить, что противовоспалительный эффект ЭМИ КВЧ, по крайней мере, частично, может быть обусловлен снижением активности ЦОГ [37]. Однако обнаруженный нами частичный аддитивный эффект при совместном действии ДН и ЭМИ КВЧ указывает на существование механизмов действия ЭМИ КВЧ на ВР, не связанных со снижением активности ЦОГ. Дегрануляция тучных клеток ко-

жи под действием низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ [44] позволяет предполагать, что в реализации эффектов ЭМИ КВЧ может участвовать гистамин. Для оценки роли гистамина в противовоспалительных эффектах ЭМИ КВЧ мы исследовали влияние антигистаминного препарата КМ и совместное действие КМ и ЭМИ КВЧ в модели острого воспаления.

Влияние клемастина и совместное действие клемастина и ЭМИ КВЧ на воспалительную реакцию.

При действии КМ (0.02-0.6 мг/кг) мы обнаружили дозозависимое снижение экссудативного отека (рис. 6А) и дозозависимое увеличение гипертермии в диапазоне доз КМ 0.02-0.2 мг/кг (рис. 6Б) [53]. Полученные данные демонстрируют достоверные отличия от контроля только при действии КМ в дозе 0.6 мг/кг, снижающей величину отека на $16.5 \pm 3.2\%$ ($p < 0.001$), и в дозе 0.2 мг/кг, увеличивающей гипертермию воспаленной конечности на $17.8 \pm 5.5\%$ ($p < 0.03$).

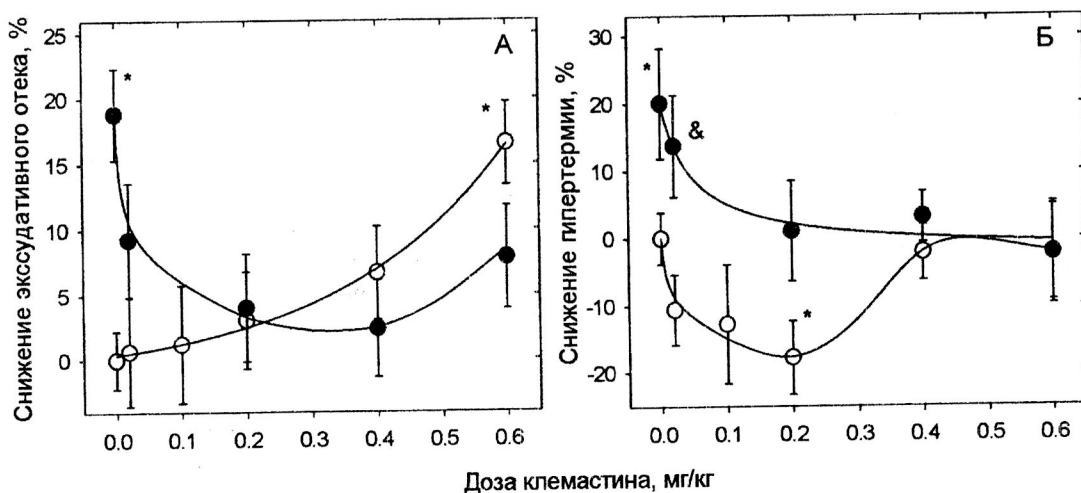


Рис. 6. Снижение экссудативного отека (А) и гипертермии (Б) воспаленной конечности в зависимости от дозы клемастина у (-o-) необлученных животных и (-●-) животных, облученных ЭМИ КВЧ (42.0 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин). $n = 6-27$; * - $p < 0.03$ от контроля (КМ в дозе 0 мг/кг), & - $p < 0.02$ от величины эффекта КМ в дозе 0.02 мг/кг.

При исследовании совместного действия КМ и ЭМИ КВЧ мы обнаружили выраженное взаимное влияние этих двух факторов [53]. С одной стороны, КМ дозозависимым образом снимал противовоспалительный эффект ЭМИ КВЧ: при использовании КМ в дозах 0.2-0.6 мг/кг эффект ЭМИ КВЧ относительно отека и гипертермии был практически полностью отменен (рис. 6). С другой стороны, совместное действие КМ и ЭМИ КВЧ отменяло повышение гипертермии, которое вызывали малые дозы КМ (рис. 6Б). Эти результаты свидетельствуют об участии гистамина в реализации противовоспалительного действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ.

Обнаруженные нами эффекты можно объяснить следующим образом. При облучении животных ЭМИ КВЧ происходит выброс гистамина из зрелых тучных клеток кожи в местах прямого действия излучения [44]. Гистамин выходит в кровоток и снижает функциональную активность фагоцитов и Т-лимфоцитов [54-56]. Именно выход гистамина в кровоток и обуславливает противовоспалительное действие ЭМИ КВЧ, заключающееся в торможении миграции клеток иммунной системы в очаг воспаления и снижении их функциональной активности, регистрируемое нами как снижение экссудативного отека и гипертермии области воспаления. При совместном действии КМ и ЭМИ КВЧ клемастин дозозависимым образом отменяет противовоспалительный эффект ЭМИ КВЧ за счет своей способности ингибировать дегрануляцию тучных клеток [57, 58].

Заключение

Таким образом, мы показали, что излучение с выбранными параметрами обладает выраженным иммунотропным действием *in vivo*. Установле-

но, что ЭМИ КВЧ не вносит заметных изменений в формирование гуморального иммунного ответа на тимусзависимый антиген [18], но снижает интенсивность клеточно-опосредованного иммунного ответа в реакции ГЗТ [34, 35]. Продемонстрировано, что облучение животных ЭМИ КВЧ приводит к снижению ФА нейтрофилов периферической крови интактных животных и изменяет функциональное состояние нейтрофилов очага воспаления [39, 40]. Полученные результаты позволяют заключить, что наиболее чувствительными к действию ЭМИ КВЧ с выбранными параметрами являются реакции фагоцитоза и клеточно-опосредованного иммунитета.

Сравнивая результаты, полученные *in vivo* и *in vitro*, можно заключить, что восприятие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ организмом носит системный характер [5]. Мы полагаем, что эффекты ЭМИ КВЧ на уровне отдельных клеток обусловлены изменением в системах внутриклеточной сигнализации, а на уровне всего организма — изменением содержания биологически активных веществ в плазме крови и в микроокружении клеток лимфоидных органов. Первичные процессы, приводящие к изменению синтеза/секреции биологически активных веществ при действии ЭМИ КВЧ, разворачиваются на уровне нервных окончаний и секреторных клеток кожи. Мы продемонстрировали, что дегрануляция тучных клеток кожи может быть важным усилительным механизмом в цепочке событий, ведущих к системному отклику организма на воздействие излучения [44, 53].

С использованием моделей острого воспаления и посттравматической регенерации кожного покрова мы впервые показали, что ЭМИ КВЧ снижает интенсивность неспецифического воспаления [35, 36, 50]. Снижая остроту ВР, ЭМИ КВЧ может облег-

чать течение патологического процесса и тем самым создавать благоприятные условия для нормализации нарушенных функций при различных патологиях. С этих позиций можно объяснить универсальность КВЧ-терапии, которая эффективно используется при лечении заболеваний, в патогенезе которых отмечаются выраженные воспалительные процессы широкой локализации [4, 59]. Фармакологический анализ показал, что кинетика и величина противовоспалительного эффекта ЭМИ КВЧ подобны таковым при действии однократной терапевтической дозы НПВС диклофенака натрия [37, 53]. Мы обнаружили, что клеточные механизмы реализации противовоспалительного действия ЭМИ КВЧ связаны с изменением функциональной активности фагоцитирующих клеток очага воспаления (снижение ФА и продукции АФК), вероятно, при действии биологически активных веществ, выход которых в микроциркуляторную систему кожи и кровотока индуцируется облучением ЭМИ КВЧ. Это подтверждается дозозависимой отменой противовоспалительных эффектов излучения при введении антигистаминного препарата клемастина. На основании полученных данных мы заключаем, что высвобождение биологически активных веществ, в том числе и гистамина, из гранул тучных клеток кожи под действием низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ является ключевым моментом в реализации биологического действия КВЧ-излучения и, в частности, его противовоспалительных эффектов [53].

Анализ литературных данных [5] и полученные нами результаты позволяют сформулировать «гистаминовую модель» биологического действия ЭМИ КВЧ [53], связывающую механизмы реализации эффектов ЭМИ КВЧ на клеточном и организменном уровнях. Согласно этой модели при

действии ЭМИ КВЧ происходит дегрануляция тучных клеток облучаемого участка кожи [44] и выход гистамина и других физиологически активных соединений в кровяное русло. Эти вещества, в том числе и гистамин, способны инициировать ряд реакций, приводящих к снижению функциональной активности фагоцитов и Т-лимфоцитов, вызывая противовоспалительный эффект.

Наши результаты существенно углубляют фундаментальное понимание механизмов биологического действия ЭМИ КВЧ на клеточном и организменном уровнях и могут служить основой для разработки терапевтических рекомендаций по совместному применению ЭМИ КВЧ и лекарственных веществ. Следует отметить, что обнаруженные нами механизмы действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ не являются единственно возможными, однако, как мы показали, вносят значимый вклад в реализацию биологического действия излучения на уровне целого организма. Обнаруженные нами механизмы действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ *in vivo* будут иметь несомненную ценность для дальнейшего изучения роли регуляторных систем организма (нервной, эндокринной и иммунной) в реализации эффектов ЭМИ КВЧ.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты №№ 96-04-49515, 99-04-48169, 01-04-06280-мас, 03-04-49210, 06-04-81034) и EOARD/ISTC (проект №017011/№2350).

Авторы искренне благодарят Коломыцеву М.П., Лупникова К.В., Попова В.И., Рогачевского В.В., Садовникова В.Б., Сафронову В.Г., Сироту Н.П., Соколова П.А., Фесенко Е.Е., Храмова Р.Н., Шумилину Ю.В. за их участие в проведении конкретных совместных исследований.



1. **Гапсеев А.Б., Чемерис Н.К.** Действие непрерывного и модулированного ЭМИ КВЧ на клетки животных, обзор, часть III, Биологические эффекты непрерывного ЭМИ КВЧ – Вестник новых медицинских технологий, 2000, т. VII, № 1, с. 20-25.
2. **Бецкий О.В., Лебедева Н.Н.** Современные представления о механизмах воздействия низкоинтенсивных миллиметровых волн на биологические объекты – Миллиметровые волны в биологии и медицине, 2001, № 3(23), с. 5-18.
3. **Бецкий О.В., Лебедева Н.Н., Котровская Т.И.** Применение низкоинтенсивных миллиметровых волн в медицине (ретроспективный обзор) – Миллиметровые волны в биологии и медицине, 2005, № 2(38), с. 23-39.
4. **Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В.** Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности – М.: Радио и связь, 1991, 168 с.
5. **Лушников К.В., Гапсеев А.Б., Чемерис Н.К.** Влияние электромагнитного излучения крайне высоких частот на иммунную систему и системная регуляция гомеостаза – Радиационная биология, Радиозкология, 2002, т. 42, № 5, с. 533-545.
6. **Гапсеев А.Б., Сафронова В.Г., Чемерис Н.К., Фесенко Е.Е.** Модификация активности перитонеальных нейтрофилов мыши при воздействии миллиметровых волн в ближней и дальней зонах излучателя – Биофизика, 1996, т. 41, вып. 1, с. 205-219.
7. **Гапсеев А.Б., Чемерис Н.К.** Действие непрерывного и модулированного ЭМИ КВЧ на клетки животных, Обзор, Часть II, Проблемы и методы дозиметрии ЭМИ КВЧ – Вестник новых медицинских технологий, 1999, т. VI, № 2, с. 39-45.
8. **Гапсеев А.Б., Соколов П.А., Чемерис Н.К.** Исследование поглощения энергии электромагнитного излучения крайне высоких частот в коже крысы с использованием различных дозиметрических методов и подходов – Биофизика, 2002, т. 47, вып. 4, с. 759-768.
9. Клиническая иммунология. Руководство для врачей – Под ред. акад. РАМН **Е.И. Соколова** – М.: Медицина, 1998, 272 с.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ – М.: ЗАО "ИИА "Ремедиум", 2000, 398 с.
11. Иммунологические методы – Под ред. **Г. Фримеля**, Пер. с нем. **А.П. Тарасова** – М.: Медицина, 1987, 427 с.
12. Лимфоциты: Методы. Пер. с англ. – Под ред. **Дж. Клауса** – М.: Мир, 1990, 395 с.
13. **Маянский А.Н., Пикуза О.И.** Клинические аспекты фагоцитоза – Казань: Магариф, 1993, 192 с.
14. **Ibrahim T., Cunha J.M., Madi K., da Fonseca L.M., Costa S.S., Gonçalves Koatz V.L.** Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of *Kalanchoe brasiliensis* – Int. Immunopharmacol., 2002, V. 2(7), p. 875-883.
15. **Rojavin M.A., Ziskin M.C.** Medical application of millimetre waves – Q. J. Med., 1998, V. 91, p. 57-66.
16. **Петров Р.В.** Иммунология – М.: Медицина, 1987, 415 с.
17. **Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д.** Иммунология – Пер. с англ. – М.: Мир, 2000, 592 с.
18. **Лушников К.В., Гапсеев А.Б., Садовников В.Б., Чемерис Н.К.**

- Влияние крайневисокочастотного электромагнитного излучения низкой интенсивности на показатели гуморального иммунитета здоровых мышей – Биофизика, 2001, т. 46, вып. 4, с. 753-760.
19. **Рыжкова Л.В., Старик А.М., Волгарев А.П., Гальченко С.В., Сазонов Ю.А.** Защитный эффект КВЧ-терапии при летальной гриппозной инфекции – Сб. докл. Междунар. симп. "Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине" – М.: ИРЭ АН СССР, 1991, ч. 2, с. 373-378.
 20. **Сазонов А.Ю., Рыжкова Л.В.** Воздействие ЭМИ ММ-диапазона на биологические объекты различной сложности – Сб. докл. 10 Российск. симп. с междунар. участием "Миллиметровые волны в медицине и биологии" – М.: ИРЭ РАН, 1995, с. 112-114.
 21. **Shckorbatov Y.G., Grigoryeva N.N., Shakhbazov V.G., Grabina V.A., Bogoslavsky A.M.** Microwave irradiation influences on the state of human cell nuclei – Bioelectromagnetics, 1998, V. 19, p. 414-419.
 22. **Федоров В.И., Погодин А.С., Дубатолова Т.Д., Варламов А.В., Леонтьев К.В., Хамоян А.Г.** Сравнительное исследование влияния электромагнитного излучения инфракрасного, субмиллиметрового и миллиметрового диапазонов на индуцированные γ -облучением соматические мутации клеток крыльев *Drosophila melanogaster* – Биофизика, 2001, т. 46, вып. 2, с. 298-302.
 23. **Belyaev I.Ya.** Non-thermal biological effects of microwaves – Microwave Review, 2005, V. 11, p. 13-29.
 24. **Ostling O., Johanson K.J.** Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells – BBRC, 1984, vol. 123(1), p. 291-298.
 25. **Сирота Н.П., Подлущий А.Я., Газиев А.И.** Повреждения ДНК в индивидуальных клетках млекопитающих – Радиобиология, 1991, т. 31(5), с. 722-727.
 26. **Sirota N.P., Bezlepkin V.G., Kuznetsova E.A., Lomayeva M.G., Milonova I.N., Ravin V.K., Gaziev A.I., Bradbury R.J.** Modifying effect *in vivo* of interferon alpha on induction and repair of lesions of DNA of lymphoid cells of gamma-irradiated mice – Radiat. Res., 1996, V. 146, p. 100-105.
 27. **Chemeris N.K., Gapeyev A.B., Sirota N.P., Gudkova O.Yu., Tankanag A.V., Konovalov I.V., Buzoverya M.E., Suvorov V.G., Logunov V.A.** Lack of direct DNA damage in human blood leukocytes and lymphocytes after *in vitro* exposure to high power microwave pulses – Bioelectromagnetics, 2006, V. 27(3), p. 197-203.
 28. **Гапеев А.Б., Лушников К.В., Шумилина Ю.В., Сирота Н.П., Садовников В.Б., Чемерис Н.К.** Влияние низкоинтенсивного крайневисокочастотного электромагнитного излучения на структуру хроматина лимфоидных клеток *in vivo* и *in vitro* – Радиационная биология. Радиоэкология, 2003, т. 43, № 1, с. 87-92.
 29. **Аловская А.А., Габдулхакова А.Г., Гапеев А.Б., Дедкова Е.Н., Сафронова В.Г., Фесенко Е.Е., Чемерис Н.К.** Биологический эффект ЭМИ КВЧ определяется функциональным статусом клеток – Вестник новых медицинских технологий, 1998, т. V, № 2, с. 11-15.
 30. **Аловская А.А., Габдулхакова А.Г., Сафронова В.Г.** Роль фосфолипазы A_2 и эпоксигеназы в ингибировании респираторного взрыва нейтрофилов низкоинтенсивным электромагнитным излучением крайне высокой частоты –

- Биофизика, 2001, т. 46, вып. 2, с. 291-297.
31. **Шурабьина А.В., Труфакин В.А., Гущин Г.В., Корнева Е.А.** Суточные вариации содержания адреналина, норадреналина и β -адренорецепторов в крови и лимфоидных органах здоровых крыс – Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1999, т. 128, № 9, с. 344-346.
 32. **Говалло В.И., Барер Ф.С., Волчек И.А., Барановская В.Т., Малявко Т.П.** Продукция ЭМИ-облученными лимфоцитами и фибробластами человека фактора, активирующего пролиферацию клеток – В сб. докл. Междунар. симпоз. "Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине" – М.: ИРЭ АН СССР, 1991, ч. 2, с. 340-344.
 33. **Ярилин А.А.** Основы иммунологии – М.: Медицина, 1999, 608 с.
 34. **Гапеев А.Б., Лушников К.В., Садовников В.Б., Чемерис Н.К., Шумилина Ю.В.** Ослабление клеточно-опосредованного иммунного ответа при действии низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот – Вестник новых медицинских технологий, 2002, т. IX, № 3, с. 22.
 35. **Лушников К.В., Гапеев А.Б., Шумилина Ю.В., Шибаев Н.В., Садовников В.Б., Чемерис Н.К.** Снижение интенсивности клеточного иммунного ответа и неспецифического воспаления при действии электромагнитного излучения крайне высоких частот – Биофизика, 2003, т. 48, вып. 5, с. 918-925.
 36. **Лушников К.В., Шумилина Ю.В., Якушина В.С., Гапеев А.Б., Садовников В.Б., Чемерис Н.К.** Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот на процессы воспаления – Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2004, т. 137, № 4, с. 412-415.
 37. **Lushnikov K.V., Shumilina J.V., Yakushev E.Yu., Gapeyev A.B., Sadovnikov V.B., Chemeris N.K.** Comparative study of anti-inflammatory effects of low-intensity extremely high-frequency electromagnetic radiation and diclofenac on footpad edema in mice – Electromagnetic Biology and Medicine, 2005, V. 24(2), p. 143-157.
 38. **Маянский Д.Н.** Хроническое воспаление – М.: Медицина, 1991, 272 с.
 39. **Гапеев А.Б., Лушников К.В., Садовников В.Б., Чемерис Н.К., Шумилина Ю.В.** Влияние крайневых высокочастотного электромагнитного излучения низкой интенсивности на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови в системах *in vivo* и *in vitro* – Вестник новых медицинских технологий, 2001, т. VIII, № 3, с. 14-17.
 40. **Коломыцева М.П., Гапеев А.Б., Садовников В.Б., Чемерис Н.К.** Подавление неспецифической резистентности организма при действии крайневых высокочастотного электромагнитного излучения низкой интенсивности – Биофизика, 2002, т. 47, вып. 1, с. 71-77.
 41. Кожа (строение, функция, общая патология и терапия) – Под ред. **А.М.Чернуха и Е.П.Фролова** – М.: Медицина, 1982, 336 с.
 42. **Khramov R.N., Voronkov V.N., Zinchenko V.P., Ilyasova E.N., Popov V.I., Khutsyan S.S.** Millimeter wave irradiation-induced changes in morphology and function of mast cells in acupoints – In Proc. of the First Arab Conference on Medical Biophysics – Cairo, Cairo University Press, 1991, p. 45.
 43. **Zavgorodny S.V., Khizhnyak Y.P., Voronkov V.N., Sadovnikov V.B.**

- Morphological changes in skin nerves caused by electromagnetic radiation of the millimeter range – Crit. Rev. Biomed. Eng., 2000, V. 28(3-4), p. 641-658.
44. **Попов В.И., Рогачевский В.В., Гапеев А.Б., Храмов Р.Н., Чемерис Н.К., Фесенко Е.Е.** Дегрануляция тучных клеток кожи под действием низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты – Биофизика, 2001, т. 46, вып. 6, с. 1096-1102.
 45. **Граевская Е.Э., Ахалая М.Я., Енсу Хан, Пархоменко И.М., Страховская М.Г., Гончаренко Е.Н.** Влияние средневолнового ультрафиолетового излучения и красного света на дегрануляцию перитонеальных тучных клеток крыс – Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2000, т. 129, № 4, с. 423-425.
 46. **Sayed S.O., Dyson M.** Effect of laser pulse repetition rate and pulse duration on mast cell number and degranulation – Lasers Surg. Med., 1996, V. 19(4), p. 433-437.
 47. **Поцелуева М.М., Пустовидко А.В., Евтодиенко Ю.В., Храмов Р.Н., Чайлахян А.М.** Образование реактивных форм кислорода в водных растворах под действием электромагнитного излучения КВЧ-диапазона – Докл. АН, 1998, т. 359, №3, с. 415-418.
 48. **Гудкова О.Ю., Гудков С.В., Гапеев А.Б., Брусков В.И., Рубаник А.В., Чемерис Н.К.** Исследование механизмов образования активных форм кислорода в водных растворах под действием импульсного электромагнитного излучения крайне высоких частот с большой пиковой мощностью – Биофизика, 2005, т. 50, вып. 5, с. 773-779.
 49. **Гущин И.С.** Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль – М.: Фармус принт, 1998, 252 с.
 50. **Бессонов А.Е., Гапеев А.Б., Лушников К.В., Медведев Н.И., Садовников В.Б., Чемерис Н.К., Шибасв Н.В., Шумилина Ю.В.** Влияние модулированного широкополосного излучения, генерируемого терапевтическим аппаратом "Минитаг", и непрерывного электромагнитного излучения крайне высоких частот на регенерацию полнослойных кожных ран у лабораторных мышей – Вестник новых медицинских технологий, 2003, т. X, № 1-2, с. 14-15.
 51. **Vane J.R.** Cyclooxygenase 1 and 2 – Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1998, V. 38, p. 97-120.
 52. **Vane J.R., Botting R.M.** Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action – Inflamm. Res., 1998, V. 47(Suppl.2), p. S78-S87.
 53. **Гапеев А.Б., Лушников К.В., Шумилина Ю.В., Чемерис Н.К.** Фармакологический анализ противовоспалительного действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот – Биофизика, 2006, т. 51, вып. 6, с. 1055-1068.
 54. **Bury T.B., Corhay J.L., Radermecker M.F.** Histamine-induced inhibition of neutrophil chemotaxis and T-lymphocyte proliferation in man – Allergy, 1992, V. 47, p. 624-629.
 55. **Hirasawa N., Ohtsu H., Watanabe T., Ohuchi K.** Enhancement of neutrophil infiltration in histidine decarboxylase-deficient mice – Immunology, 2002, V. 107, p. 217-221.
 56. **Hori Y., Nihei Y., Kurokawa Y., Kuramasu A., Makabe-Kobayashi Y., Terui T., Doi H., Satomi S., Sakurai E., Nagy A., Watanabe T., Ohtsu H.** Accelerated clearance of Escherichia coli in experimental peritonitis of histamine-deficient mice – J. Immunol., 2002, V. 169, p. 1978-1983.

57. **Hagermark O., Wahlgren C.F., Gios I.** Inhibitory effect of loratadine and clemastine on histamine release in human skin – *Skin Pharmacol.*, 1992, V. 5, p. 93-98.
58. **Assanasen P., Naclerio R.M.** Antiallergic anti-inflammatory effects of H₁-antihistamines in humans – *Clin. Allergy Immunol.*, 2002, V. 17, p. 101-139.
59. **Бецкий О.В., Девятков Н.Д.** Разработка основ миллиметровой терапии – *Биомедицинская радиоэлектроника*, 2000, № 8, с. 53-63.

The mechanisms of immunomodulating and anti-inflammatory effects of low-intensity electromagnetic radiation of extremely high frequencies

Gapeyev A.B., Chemeris N.K.

The review is devoted to research into mechanisms of immunomodulating and anti-inflammatory effects of low-intensity extremely high-frequency electromagnetic radiation (EHF EMR) and based on the experimental and theoretical works which were performed at direct participation of the authors and published in 1999-2006. It was shown that pronounced immunotropic action of low-intensity EHF EMR is expressed as modification of reactions of cellular and nonspecific immunity. It was revealed that the exposure of animals to low-intensity EHF EMR (42.0 GHz, 0.1 mW/cm², 20 min) causes changes in chromatin organization of lymphoid cells, reduces an intensity of cellular immune response in delayed-type hypersensitivity reaction, reduces the phagocytic activity of peripheral blood neutrophils and does not influence the humoral immune response to thymus-dependent antigen. It was found that local EHF EMR exposure induces the degranulation of skin mast cells that is the important amplifying mechanism in realization of EHF EMR action at the level of whole organism with participation of nervous, endocrine and immune systems. A "histamine model" of biological effects of low-intensity EHF EMR was proposed which joins cellular reactions and systemic reaction of an organism to EHF EMR. We believe that the present review will be useful for doctors and researchers to deeper understanding of mechanisms of therapeutic action of EHF EMR and will stimulate the further studies of immunomodulating effects of weak electromagnetic fields.

От редакции. Известно, что вода является ключевым объектом в рецепции низкоинтенсивных миллиметровых волн биологическими структурами. Этому вопросу посвящается большое количество научных публикаций. В данной статье авторами предложен оригинальный подход к объяснению надмолекулярной структуры воды в контексте эффектов воздействия низкоинтенсивных миллиметровых волн.

Надмолекулярные структуры воды



Богданов Е.В., Мантрова Г.М.

Представлена кластерная модель воды. Определена геометрия конформеров кластера-12 и рассмотрена его стабильность. Показано, что время диэлектрической релаксации определяется временем последовательных переходов протонов по водородным связям. Для предложенной модели рассчитана функция радиального распределения g_{OO} .

Введение

Одним из видов надмолекулярных структур в воде являются кластеры – выделенные группы молекул, объединенные водородными связями. Примером кластерной модели, вошедшей во многие обзоры, посвященные структуре воды, в частности [1, 2], является модель Эйкена [3]. Модель предложена для объяснения аномалии плотности воды, в ней допускается сохранение в воде агрегатов, состоящих из 8 молекул H_2O . Ассоциат из 8 молекул представляет собой достаточно произвольно выделенный участок структуры льда. Однако теплоемкость воды, в состав которой входят только молекулярные агрегаты $(H_2O)_8$ и неассоциированные молекулы H_2O , не соответствует теплоемкости реальной воды. Для устранения этого недостатка пришлось дополнить модель менее крупными ассоциатами – $(H_2O)_4$ и $(H_2O)_2$, которые не сказываются на молярном объеме воды, но увеличивают ее теплоемкость. Такое представление о воде, как о смеси различных ассоциатов и неассоциированных молекул, совершенно отлично от представлений о структуре воды, основанных на рентгенографических данных [4].

Модель, предложенная в работах

[5, 6], в рамках которой в данной статье рассматриваются структуры воды, также может быть отнесена условно к кластерной группе. Предполагается, что в воде существуют ассоциаты только из 12 молекул воды (кластер-12), т.е. в отличие от модели Эйкена, других ассоциатов и неассоциированных молекул H_2O в воде нет. По некоторым данным (показанным ниже) при $0^\circ C$ одна половина кластеров-12 образует каркас, в котором кластеры связаны между собой водородными связями, а вторая половина размещается в пустотах каркаса, не образуя связей между собой. Модель имеет черты клатратной группы до $30-35^\circ C$. При повышении температуры структура кластера-12 модифицируется, что приводит к постепенной перестройке каркаса в основном за счет образования связей между «пустотными» кластерами и кластерами каркаса, что можно рассматривать, как образование непрерывного, континуального каркаса при $37^\circ C$. Дальнейшие перестройки структуры каркаса с ростом температуры также связаны с образованием еще одной модификации структуры кластера-12, которая приводит к расслоению каркаса.

Данная работа посвящена изучению свойств кластера-12 и их связи с рядом основных свойств жидкой воды.

О количественном составе кластера

Количественный состав кластера, положенного в основу эквикастерной модели воды [5, 6], можно оценить анализируя зависимость температуры кипения от массы молекул гидридов в изоэлектронных рядах [7]. Для изоэлектронного ряда при сохранении характера взаимодействия между молекулами зависимость такого вида является линейной (рис.1, ряд а), так как глубина залегания уровней энергии молекулы обратно пропорциональна ее массе. Чаще встречаются зависимости с отклонениями от линейности из-за изменения характера межмолекулярного взаимодействия при сохранении монотонности, например, рис. 1, ряд b. Особый случай представляют ряды с и d (рис. 1). Здесь HF и H_2O явно выпадают из своих рядов, резко нарушается монотонность зависимостей, что связывают с ассоциацией молекул за счет водородных связей и образованием циклических структур с нулевым дипольным моментом [7, 8]. Масса таких ассоциатов определяется точкой пересечения линейного участка зависимости с уровнем температуры кипения. Таким образом,

зависимости с и d можно рассматривать, как экспериментальное свидетельство существования ассоциатов $(\text{HF})_9$ и $(\text{H}_2\text{O})_{12}$ в жидкой фазе и, возможно, в газовой фазе при соответствующей устойчивости этих образований. Существование ассоциатов в жидкой фазе воды подтверждается определенной экспериментально степенью деполяризации комбинационных спектров воды [9]. Этот показатель характеризует группу симметрии молекул, на которых происходит рассеяние излучения, и тип симметрии нормальных колебаний молекулы [10]. Полярная молекула воды относится, как известно, к низкой точечной группе симметрии C_{2v} , и обладает неполносимметричным набором нормальных колебаний [1], поэтому по правилам поляризации комбинационного рассеяния света [10] степень деполяризации для нее равна $6/7$, а экспериментальное значение для воды, полученное в работе [9], равно $\sim 0,2$, что ближе к другому предельному значению степени деполяризации (нулю), относящемуся к молекулам с полносимметричными колебаниями и с высокой группой симметрии (T_h, O_h). Кластер-12 относится к средней группе симметрии D_{6h} [10].

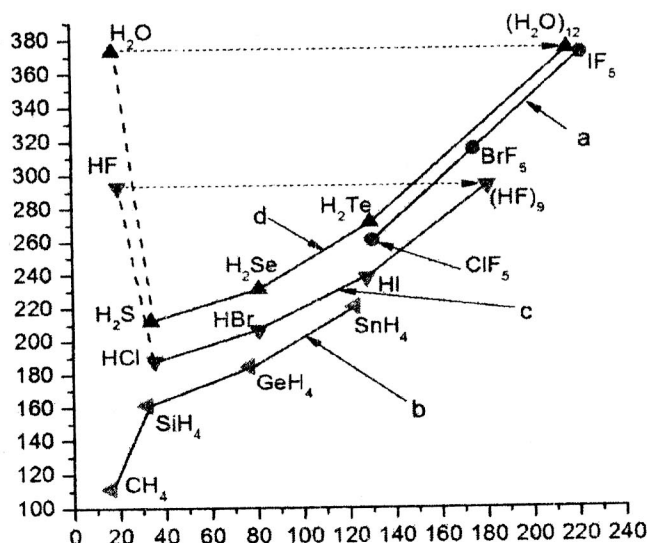


Рис. 1. Зависимость температуры кипения от массы для изоэлектронных рядов молекул. Температура в $^{\circ}\text{K}$ (по оси ординат), масса — ат. ед. массы (по оси абсцисс)

Существование циклических комплексов $(\text{HF})_n$ с $n \geq 6$ в газовой фазе признано уже давно [7]. В этой работе Полинг упоминает об экспериментальном значении среднего $\angle \text{HFH} = 140^\circ$ в газообразном HF. Это означает, что циклическая структура, образованная невозмущенными водородными связями, скорее всего, представляет собой плоский девятиуголь-

ник. На присутствие одинаковых ассоциатов в воде и паре указывают спектры поглощения в области длин волн 0.7-2.1 мкм (рис. 2), где наблюдается несколько подобных полос поглощения сдвинутых для воды в длинноволновую область и, возможно, определяемых собственными колебаниями ассоциатов [11].

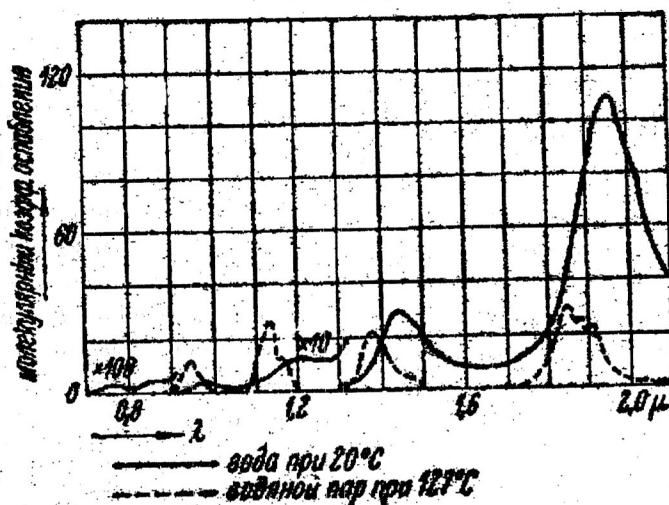


Рис. 2. Поглощение в воде и водяном паре [11]

Фигуры Тиндаля [12] - это объемы в толще монокристалла льда, в которых растаял лед. Известно, что фигуры Тиндаля имеют форму снежинок. Если при таянии в жидкую фазу переходят одновременно не отдельные молекулы, а целые ассоциаты из 12 молекул, образованные на основе кооперативности водородных связей и обладающие гексагональной симметрией, то легко себе представить, что такие формы возможны. И с другой стороны, многообразие совершенных форм снежинок с гексагональной симметрией вполне возможно, если такие ассоциаты образуют также и газовую фазу воды.

Кластер-12 и его конформеры

Структура кластера-12 может быть построена на основе sp^3 -гибридизации атома кислорода [13] и искажения (изгиба) водородных связей [14]. Кластер-12 представляет собой трансформированный фрагмент нативной структуры гексагонального льда, состоящий из двух расположенных друг над другом колец. Трансформация, происходящая при плавлении льда, сводится к повороту 6 из 12 молекул этих колец вокруг осей, проходящих через протоны водородных связей в кольцах, и образованию трех новых водородных связей между кольцами [5]. В результате гексагональные кольца льда типа «кресла» превращаются в плоские кольца с

шестью водородными связями между ними, а молекулы кластера располагаются в вершинах шестигранной призмы. Каждая молекула кластера-12 оказывается связанной с другими его молекулами тремя водородными связями, при этом связи между кольцами остаются прямыми как во льду, а в кольцах становятся изогнутыми. Такую структуру рассматриваем как первый конформер (K1) кластера-12 (рис. 3, а). Объем пустоты гексагонального льда сокращается до объема, где могут разместиться только две неассоциированные молекулы, при этом, как показывают несложные расчеты (масса 12 молекул воды отнесенная к объему шестигранной призмы, описанной вокруг кластера-12), плотность кластера-12 только на $\sim 0,1\%$ выше средней плотности воды, что автоматически снимает многие трудности, присущие другим моделям воды.

Конформер K1 представляет собой метастабильную структуру кластера-12 потому, что энергии связей этой структуры характеризуются двумя раз-

ными уровнями, так как шесть связей являются прямыми, а остальные двенадцать — изогнутыми. Температурный интервал существования конформера K1 охватывает, по-видимому, область существования переохлажденной воды от -38 до 0°C и участок от 0 до 4°C , где с ростом температуры кластеры со структурой первого конформера постепенно переходят к стабильной структуре второго конформера (K2) (рис. 3, б), у которого энергия всех связей одинакова, т.е. водородные связи все изогнуты на один и тот же угол. При 4°C все кластеры приобретают структуру конформера K2. В конформерах K2 происходит сближение колец кластера по сравнению с K1 из-за изгиба водородных связей между ними и сближение самих кластеров из-за изгиба связей между кластерами. В результате этого плотность воды достигает своего максимума. Геометрическая оценка перемещений в рассматриваемой структуре подтверждает порядок величины изменения плотности.

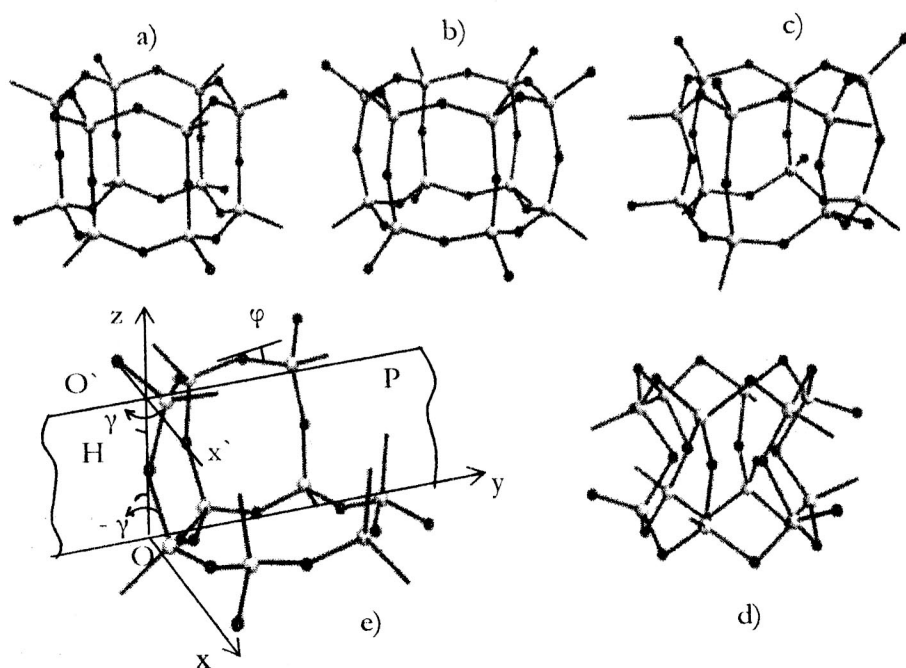


Рис. 3. Общий вид конформеров кластера-12. Конформеры и соответствующие им углы изгиба водородной связи $\varphi = 180^\circ - \angle \text{ОНО}$: а) K1, 0° , $38,9^\circ$, б) K2, 26° , в) K3, $37,4^\circ$, д) K4, $75,4^\circ$; е) P — диагональная плоскость, связь $\text{ОНО}'$ лежит в плоскости P, оси вращения молекул X и X' \perp P

Определение возможных стабильных структур кластера-12 с одинаковыми углами изгиба водородных связей было сделано на основе анализа его геометрии. В общих чертах это выглядит так: в вершинах шестигранной призмы расположены молекулы воды, молекулы связаны друг с другом тремя связями, например, так, как показано на рис. 3, а (конформер К1), здесь связи между кольцами прямые, т.е. угол изгиба $\varphi = 180^\circ - \angle\text{ОНО}$ равен нулю, а угол изгиба связей в кольцах, как нетрудно определить с учетом тетраэдрических углов, $\varphi = 38,9^\circ$. При синхронном повороте всех молекул на один и тот же угол γ все углы связей будут меняться, но в разной степени – углы изгиба между кольцами линейно

зависят от γ ($\angle\text{ОНО} = 180^\circ - 2\gamma$), что представлено на рис.4 пририсованными прямыми (а), зависимость углов изгиба связей в кольцах от γ более сложная и может быть построена, в частности, на основе формулы о направляющих косинусах. Эти зависимости показаны на рис. 4 кривыми б и с. Кривой б соответствуют такие повороты молекул, когда все связи между кольцами изгибаются в одну сторону – либо наружу, либо внутрь кластера. Изгибу наружу соответствует ветвь б, лежащая в области отрицательных значений γ , а при положительных γ – ветвь в, для которой все связи между кольцами изогнуты внутрь кластера.

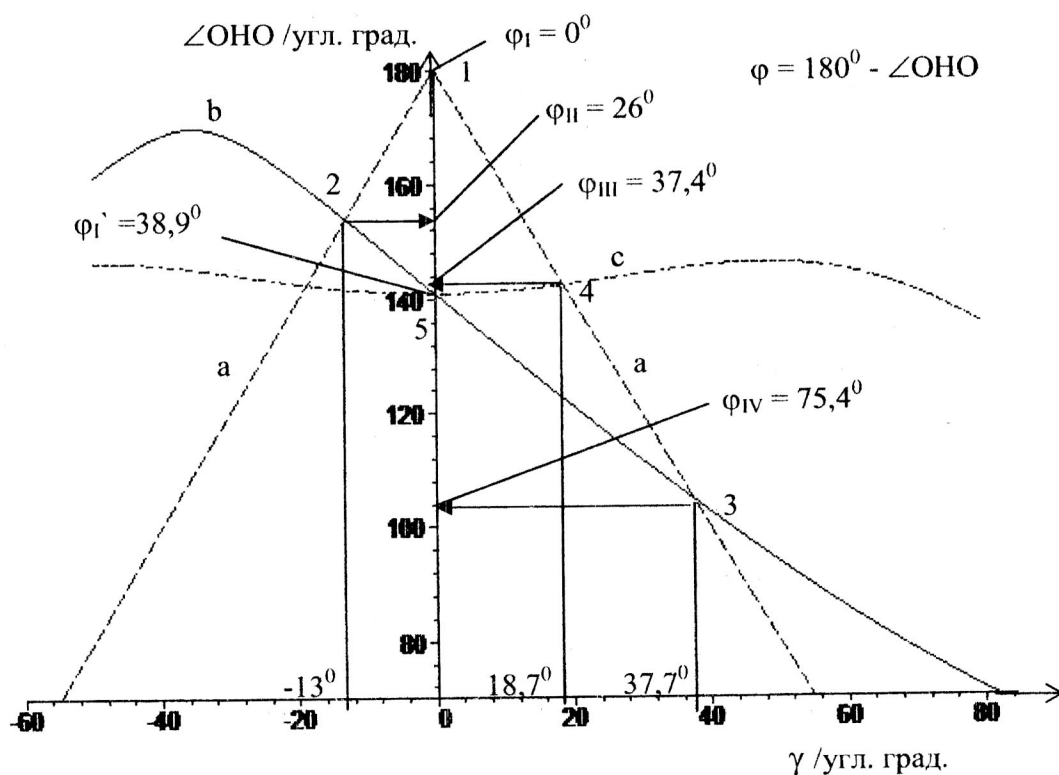


Рис. 4. Зависимости углов изгиба водородных связей $\angle\text{ОНО}$ в кластере-12 от угла (γ) синхронного поворота всех его молекул.
а – для связи между кольцами, б и с – для связи в кольцах

Кривая с представляет зависимость угла изгиба связей в кольце в случае такого поворота молекул, когда соседние связи между кольцами оказываются изогнутыми поочередно в разные стороны – наружу или внутрь кластера. Значения углов изгиба, соответствующие конформерам, определяются по точкам пересечения (2, 3 и 4) спроектированных прямых а с кривыми b и c (рис. 4). Конформеру K1 (рис. 3, а) соответствуют две точки пересечений 1 и 5 на рис. 4 при $\gamma = 0$, точка 1 показывает, что связи между кольцами прямые $\varphi = 0^\circ$ ($\angle \text{ОНО} = 180^\circ$), а связи в кольцах изогнуты $\varphi_1 = 38,9^\circ$, углы изгибов и длины связей разные, следовательно, конформер K1 метастабилен. Конформеру K2 (рис. 3, б) соответствует точка пересечения 2 (рис. 4), для него угол изгиба связей одинаков $\varphi_{II} = 26^\circ$, длины связей одинаковы, конформер K2 стабилен. Конформеру K3 (рис. 3, в) соответствует точка пересечения 4 (рис. 4), угол изгиба связей одинаков $\varphi_{III} = 37,4^\circ$, но длины связей разные, конформер K3 метастабилен. Конформеру K4 (рис. 3, д) соответствует точка пересечения 3, угол изгиба связей одинаков $\varphi_{IV} = 75,4^\circ$ и длины связей одинаковы, конформер K4 стабилен. Таким образом, выявлены четыре конформера кластера-12 из них два K2 и K4 стабильные, а два других K1, K3 метастабильные.

Среднеквадратичные значения углов изгиба водородных связей в воде с ростом температуры увеличиваются [15], поэтому области существования тех или иных конформеров связаны с температурой.

Структура конформеров K1 и K2 (рис. 3, а, б) такова, что их свободные связи направлены примерно под углом $\sim 30^\circ$ к плоскости кольца кластера, т.е. к плоскости, на которой расположены атомы кислорода. Такая ориентация связей предопределяет расположение кластеров, связанных

водородными связями с рассматриваемым кластером, т.е. они располагаются над и под кластерами его ближайшего окружения по слою. На рис. 7 кластеры представлены в виде шестигранных призм, в вершинах которых размещены центры атомов кислорода. Рассматриваемый кластер обозначен буквой (а), один из шести кластеров его ближайшего окружения в слое обозначен буквой (с). Схема расположения кластеров в слоях над и под слоем рассматриваемого кластера показана ниже на том же рисунке. Кластеры, связанные между собой водородными связями (шестигранные изображены штрихованными линиями, обращены друг к другу ребрами), образуют каркас, в пустотах которого расположена другая половина кластеров, не связанная между собой и с каркасом водородными связями (шестигранные изображены сплошными линиями, обращены друг к другу гранями). Следует отметить, что в этом каркасе водородные связи образуются только между слоями кластеров, в слое же кластеры такими связями не объединены.

Структура конформера K3 (рис. 3, в) имеет шесть свободных связей примерно такой же направленности как у K1, K2 и шесть свободных связей почти параллельных плоскости кольца кластера. В каркасе, образованном K3, нет «пустотных» кластеров и при определенной взаимной ориентации кластеров образуются водородные связи как между слоями, так и вдоль слоев. Образуется более жесткий, чем прежний, непрерывный (континуальный) каркас из конформера K3. Формирование такого каркаса при изменении температуры можно связать с минимумами конфигурационного вклада теплоемкости при $\sim 37^\circ\text{C}$ и изотермической сжимаемости воды при $\sim 45^\circ\text{C}$.

Структура конформера K4 (рис. 3, д) позволяет образовывать связи только между кластерами, лежащими в

том же слое, что должно приводить к расслоению структуры воды при высоких температурах.

Стабильность кластера-12

Стабильность кластера-12 основана на множестве его протолитических структур, находящихся в резонансе по энергии основных состояний [7]. Для полиэдрических кластеров воды на основе теории графов разработаны подходы анализа возможных размещений протонов на водородных

связях и установления корреляций между энергией связи кластера и топологией водородного связывания [16-18]. В работе [16] на основе расчетов энергии связи полиэдрических кластеров воды показано, что наиболее стабильными являются циклические кластеры лишь при четном числе дуг в циклах. На рис. 5, а, б показана схема водородных связей кластера-12 в одном из шести состояний с наименьшей энергией и соответствующий ориентированный граф, циклы которого содержат только четные числа дуг от 4 до 12.

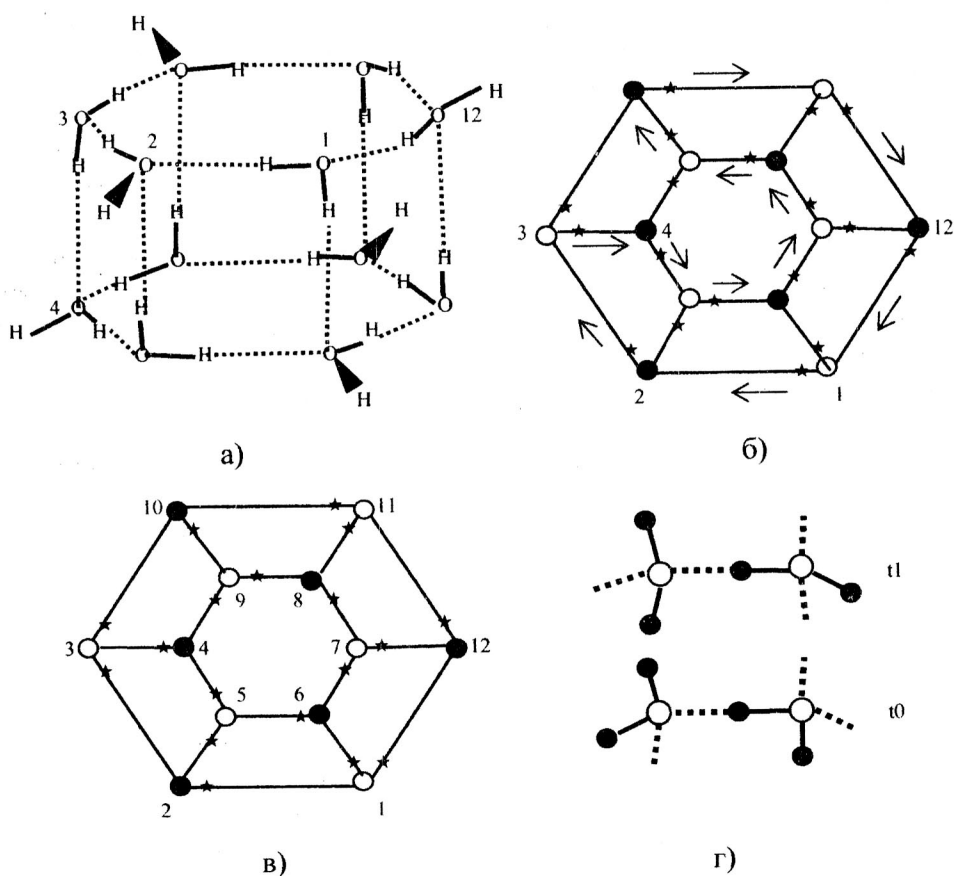


Рис. 5 Кластер-12

а) схема водородных связей неполяризованного состояния; б) оргграф неполяризованного состояния; в) оргграф поляризованного состояния; г) *транс*-конформации водородной связи t1, t0;
 ● – кислород с протоном на свободной связи, ○ – кислород, свободной связью которого является неподеленная пара электронов;
 ★ – протон, ковалентно связанный с близко расположенным кислородом

На графе это состояние отражено тем, что вершины одного типа связаны только с вершинами другого типа (на поверхности кластера протоны свободных связей распределены равномерно), и протоны на связях расположены симметрично с соблюдением правил Бернала-Фаулера (на водородной связи находится только один протон и около кислорода - только два ковалентно связанных с ним протона). С физической точки зрения в этом состоянии дипольный момент кластера равен нулю. При такой топологии кислородов имеется еще пять вариантов симметричного размещения протонов [17] и для них дипольный момент также равен нулю. Эти шесть структур кластера-12 характеризуются одинаковой энергией и к ним может быть применена концепция резонанса [7]. Кроме того, существуют несимметричные размещения протонов, соответствующие возбужденным, т.е. поляризованным состояниям кластера-12. Если воспользоваться теоремами, введенными в работе [18] для орграфов, и сосчитать для такой О-топологии число возможных расположений протонов, соответствующих правилам Бернала-Фаулера (за исключением шести, указанных выше), то получится величина равная 246. Среди них есть расположения протонов, которые незначительно изменяют энергию основного состояния кластера, за счет чего число структур, находящихся в резонансе, возрастает.

Стабильность кластера-12 также находит подтверждение в работе [17], в основе которой лежит разделение пяти типов водородных связей на две группы - сильные и слабые связи. В сильную группу входят две *транс*-конформации (они показаны на рис. 5 г), в слабую группу входят три *цис*-конформации. *Транс*-конформации (1, 0) отличаются тем, что только в этих случаях кулоновское взаимодей-

ствие протонов и неподеленных пар, расположенных на соседних связях, усиливает данную водородную связь. Для ряда полиэдрических структур, в том числе и для гексагональной призмы, получены распределения по числу *t*-связей, т.е. определено количество комбинаторно-топологических конфигураций, соответствующее числу *t*-связей от 0 до полного числа связей в полиэдре рассматриваемого класса. Это распределение является, по существу, энергетическим спектром топологической модели кластеров. Нулевое значение означает запрещенность уровня, отличное от нуля - степень заселенности. Показано, что структуры, содержащие грани лишь с четным числом сторон, имеют преимущество перед структурами с пентагональными гранями. Для первых между основным уровнем энергии (все связи являются *t*-связями) и ближайшими существует довольно широкая энергетическая щель (три запрещенных уровня). Это обстоятельство существенно повышает стабильность таких структур. На схеме водородных связей а и на графе б (рис. 5) видно, что все восемнадцать связей кластера-12 в неполяризованном состоянии относятся к *транс*-конформациям либо 1, либо 0, т.е. все связи являются *t*-связями. Как показывает анализ, такому состоянию соответствует шесть симметричных конфигураций размещения протонов на водородных связях, а кластеры-12 с 17, 16 и 15-ю *t*-связями не реализуются (энергетическая щель). Далее для 14-ти *t*-связей возможно 156 различных конфигураций протонов, включающие в себя и разные О-топологии. Кластеры с 13-ю *t*-связями снова не реализуются. Для 12-ти *t*-связей возможно 228 конфигураций протонов. Общее число изомеров кластера-12 за счет протонного беспорядка и разных О-топологий составляет 9074.

О времени диэлектрической релаксации

Для заданной О-топологии многочисленные конфигурации размещения протонов в кластере достигаются путем целого ряда переходов протонов по замкнутым маршрутам разной длины. Если воздействие на протон носит локальный характер, что возможно при флуктуационных движениях другого протона той же молекулы воды, то наиболее вероятной реакцией будет переход по кратчайшему циклу из 4-х вершин, например, 1, 6, 5, 2, 1 орграфа рис. 5, в. В случае внешнего электрического поля, которое возмущает все молекулы кластера, замкнутый маршрут перемещений протонов (двенадцати-вершинный цикл) должен охватить также все молекулы кластера, например, как показано на (рис. 5, б) стрелками, начиная с вершины 1. Как показал Фрёлх [19], молекулы воды с тремя связями могут иметь только три из шести возможных направлений дипольного момента. Чтобы суммарный дипольный момент кластера оптимально соответствовал по направлению приложенному

полю, в общем случае необходимо ориентировать моменты каждой молекулы кластера, что можно сделать при последовательном перемещении протонов всех двенадцати молекул. В зависимости от состояния поляризации кластера до наложения внешнего поля могут оказаться достаточными как более короткие маршруты, так и более длинные, с повторным обходом некоторых молекул, что позволит ориентировать эти молекулы по любому из трех возможных для них направлений. Когда большинство кластеров не поляризовано, наиболее вероятным маршрутом поляризации является обход всех двенадцати молекул. Пример поляризованного состояния кластера показан на соответствующем ему орграфе рис. 5, в (для такого состояния характерно несимметричное расположение протонов). Можно привести экспериментальные данные, подтверждающие такие представления. На рис. 6 показаны экспериментальные зависимости времени диэлектрической релаксации τ_A [1], времени жизни водородной связи τ_B [20] и их отношения τ_A / τ_B в зависимости от температуры.

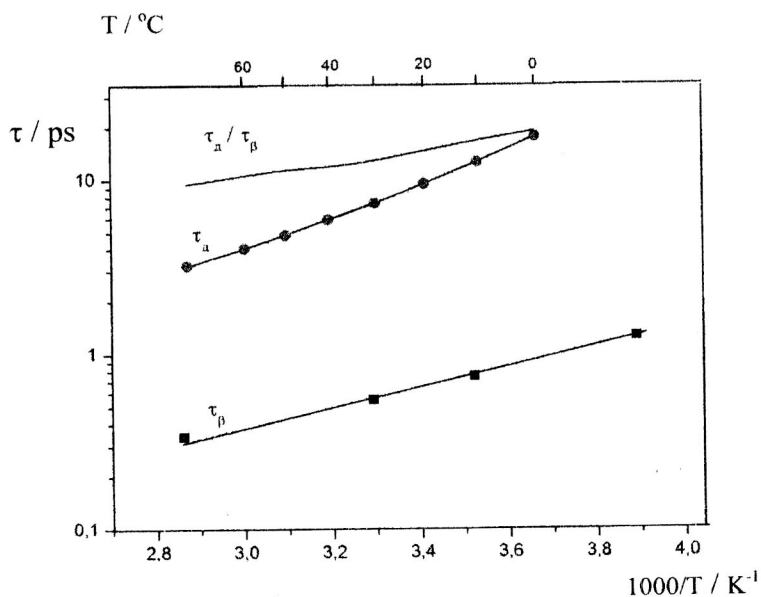


Рис. 6. Температурные зависимости времени диэлектрической релаксации τ_A [1], времени жизни водородной связи τ_B [20] и их отношения τ_A / τ_B для воды

В температурном диапазоне от 40 до 60°C отношение $\tau_A / \tau_B = 11,8-11,9$, т.е. время релаксации достаточно точно определяется продолжительностью совершения протонами двенадцати последовательных скачков из положения равновесия. При 75°C это отношение снижается до 10,7, а при уменьшении температуры от 30 до 0°C эта величина растет от 13,6 до 20,4. Отклонения отношения на краях температурного диапазона связаны, по-видимому, с трудностью определения хода зависимости τ_B при этих температурах. Сохранение величины отношения τ_A / τ_B во всем диапазоне температур от 0 до 75°C подтверждается результатами Криницкого [21]. Он обнаружил, что отношение времени диэлектрической релаксации τ_A к времени вращательной корреляции $\tau_{B\text{в}}$ почти не зависит от температуры в интервале от 0 до 75°C и равно приблизительно 3,7. Это значит, что зависимости τ_A и $\tau_{B\text{в}}$ от температуры одинаковы с точностью до постоянного множителя во всем интервале от 0 до 75°C, а τ_B обнаруживает такую же зависимость только в интервале от 40 до 60°C. Время вращательной корреляции это также и среднее время поворота дипольного момента молекулы воды, а последнее происходит в кластере за время скачков протонов по кратчайшему замкнутому четырехвершинному маршруту. Для данных Криницкого отношение $\tau_{B\text{в}} / \tau_B = 3,1 - 3,5$ в интервале от 40 до 60°C, что можно рассматривать, в данном случае, как качественное подтверждение представлений о переходах протонов.

Радиальное распределение $g_{\text{оо}}$

Рассмотрение радиальной функции распределения проводится для клатратного каркаса модели со структурой кластера в виде конформера K2

(см. рис. 3, б). Структура образована кластерами двух групп, представленных в равных долях. Кластеры одной группы (изображены на рис. 7 пунктирной линией) объединены между собой слабыми водородными связями и образуют каркас, в пустотах которого располагаются кластеры другой группы, повернутые на угол 30° и не связанные водородными связями (сплошная линия). В объеме такой структуры можно различить чередующиеся слои двух видов, которые отличаются расположением кластеров разных групп, как показано на рис. 7, а, б. В направлении, перпендикулярном к слоям, кластеры образуют столбцы с чередующимися кластерами двух групп. Среднее расстояние между центрами атомов кислорода, принадлежащих к кластерам в разных слоях (рис. 7, с) такое же, как и среднее расстояние ОО в кластере ($\bar{R}_{\text{ОО}} = 2,847 \text{ \AA}$). Расстояние между центрами кластеров определяется плотностью воды при выбранной температуре (25°C), т. к. плотность кластеров несколько выше плотности воды.

В данной структуре различаются четыре вида позиций кластеров по две для каждой группы: (а), (д) – для одной и (б), (с) – для другой группы и пять разновидностей центральных молекул (обозначены цифрами от 1 до 5 (рис. 7, а, б), которые имеют разное молекулярное окружение. Кластеры (а) (или (б)) окружены шестью кластерами другой группы и на каждый такой кластер приходится два кластера окружения. На основе этих данных определим веса каждой разновидности центральных молекул: молекулы 1, 2, 4 и 5 каждая имеют вес равный 1/6, а молекула 3 – 1/3. Окружение центральной молекулы, для которого проводились расчеты, состояло из более 300 молекул. По известным пространственным координатам для каждой из пяти разновидностей центральных молекул

определялся набор радиусов координационных сфер (до 10 Å) и подсчитывалось число молекул (имеются в виду центры молекул) на соответствующих координационных сферах. После усреднения числа молекул на координационных сферах с учетом весов и свода данных в один список

получаем таблицу данных: набор радиусов координационных сфер и соответствующие им числа молекул, присущие данной структуре и справедливые для любой молекулы структуры, если ее считать центральной молекулой. Укороченный вариант этих данных (до 8 Å) приведен в таблице.

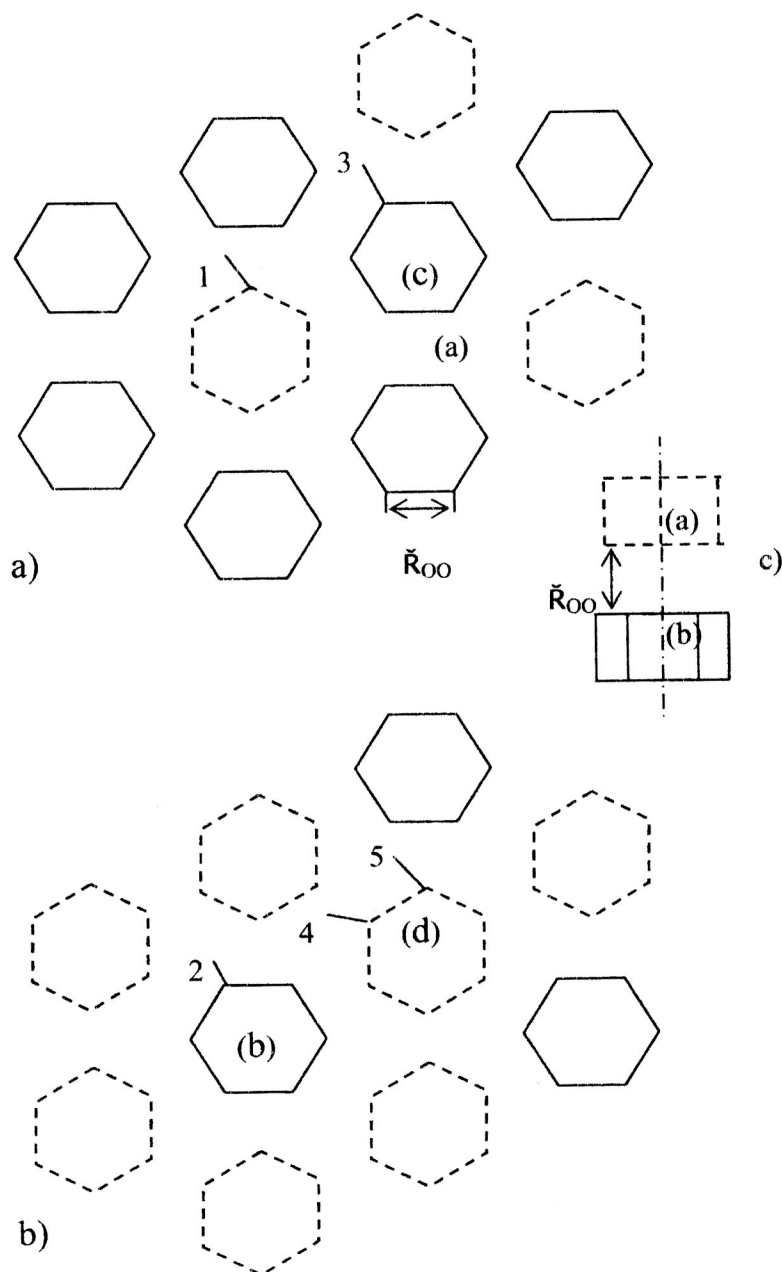


Рис. 7. Фрагменты двух слоев предполагаемой структуры воды. Кластеры представлены в виде шестигранных призм, в вершинах которых расположены центры атомов кислорода

$R_{oi}(\text{\AA})$	N_i	s_{ni}	s_n
2,847	3,00	0,15	0,15
2,847	0,17	0,2	0,35
3,206	2,00	0,45	0,35
<u>3,528</u>	1,33	0,36	0,35
3,610	0,33	0,36	0,35
<u>4,026</u>	2,00	0,3	0,3
<u>4,026</u>	0,50	0,36	0,35
4,534	2,00	0,36	0,35
4,597	1,33	0,36	0,35
4,767	1,33	0,36	0,35
<u>4,931</u>	2,00	0,52	0,55
<u>4,931</u>	2,67	0,7	0,67
5,408	1,00	0,6	0,67
5,553	2,00	0,6	0,67
<u>5,694</u>	3,00	0,6	0,65
<u>5,694</u>	2,33	0,6	0,67
5,882	4,00	0,85	0,67
6,063	1,33	0,6	0,67
6,193	2,00	0,85	0,67
6,240	0,67	0,6	0,67
<u>6,366</u>	1,00	0,6	0,67
<u>6,366</u>	3,00	0,6	0,67
6,699	3,33	0,6	0,67
6,742	1,33	0,6	0,67
6,859	2,00	0,6	0,67
6,974	6,00	0,65	0,67
7,128	1,33	0,6	0,67
7,318	1,33	0,6	0,67
7,426	2,00	0,6	0,67
<u>7,532</u>	3,67	0,6	0,67
7,571	1,33	0,63	0,75
7,675	2,00	0,63	0,75
7,917	4,00	0,85	0,75
7,953	2,00	0,63	0,75
<u>8,053</u>	4,33	0,63	0,75

Примечание: R_{oi} – радиусы координационных сфер; N_i – количество молекул на них; s_{ni} и s_n – полуширины гауссианов для кривых на рис. 6 1(a) и 1(b): цифры, соответствующие кривой 1 выделены курсивом; кривой 2 – жирным курсивом; кривой 3 – курсивом с подчеркиванием

Корреляционную функцию $g_{OO}(R)$ представим как сумму гауссианов:

$$g_{OO}(R) = \frac{1}{4\pi R^2 \rho_0} \sum_{i=1}^n \frac{N_i}{s_i \sqrt{2\pi}} \exp \left[-\frac{(R - R_{oi})^2}{2s_i^2} \right]$$

где R_{oi} – центр i -го распределения, N_i – площадь под соответствующим гауссианом, s_i – полуширина этого гауссиана, ρ_0 – плотность воды при дан-

ных условиях. Как известно, для кристаллического твердого тела ширина гауссиана зависит только от силы связи между атомами кристалла и температуры, так что ширина гауссианов на различных радиусах остается постоянной. В случае простой (одноатомной) жидкости ширина максимумов функции $g_{OO}(R)$ должна возрастать пропор-

ционально квадратному корню из среднего расстояния соответствующего слоя от центральной молекулы (с учетом теплового расширения) [22]. Для многоатомной полярной жидко-

сти такой, как вода, следует ожидать иную зависимость ширины максимумов от радиуса координационной сферы. В нашем случае, все величины за исключением s_i известны.

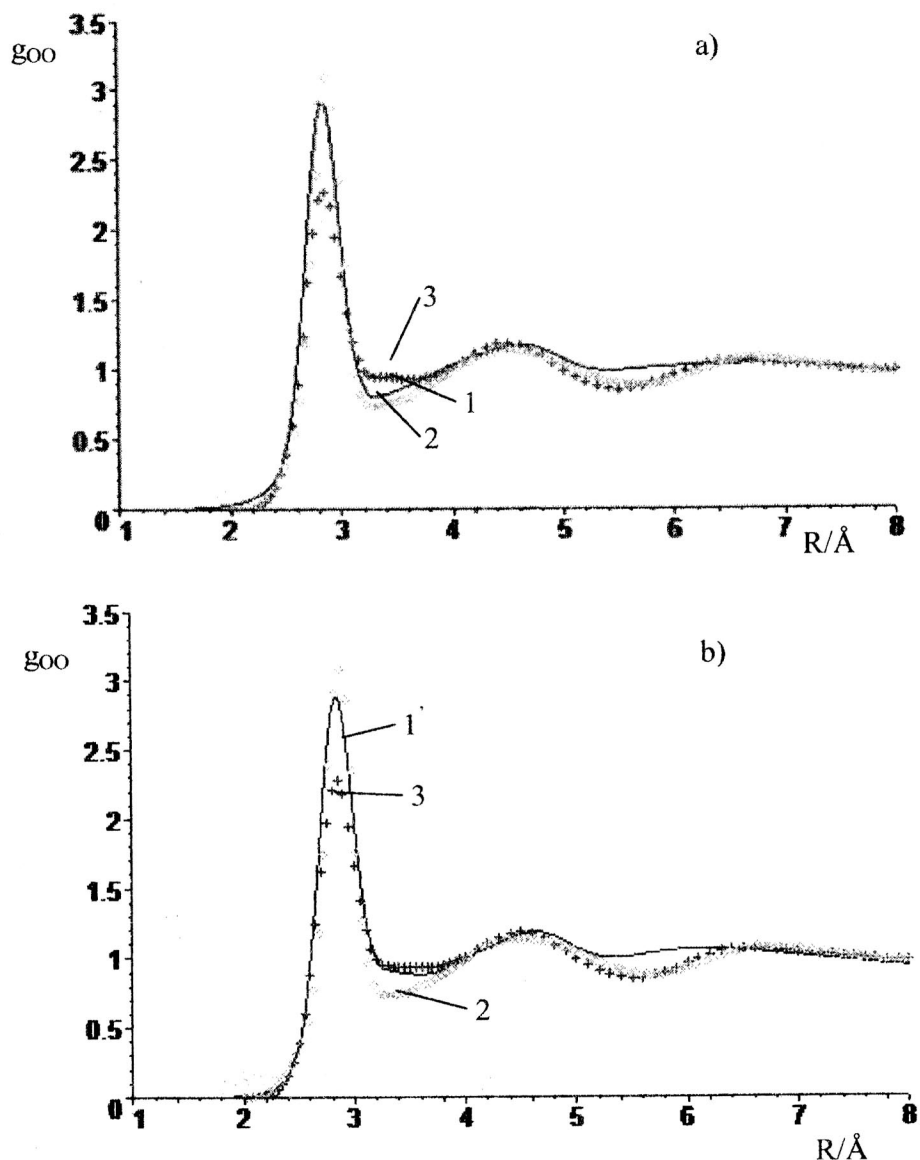


Рис. 8. Функции парной корреляции $g_{OO}(R)$ воды при 298°K.

1 и 1' – расчетные зависимости по данным таблицы, 2 – экспериментальная зависимость, полученная методом дифракции нейтронов [23], 3 – экспериментальная зависимость, полученная методом дифракции рентгеновских лучей [24]

Для выбранной структуры аппроксимация проводилась в двух вариантах. В первом варианте полуширины s_{ni} выбирались для воспроизведения экспе-

риментальной зависимости $g_{OO}(R)$, полученной методом дифракции нейтронов, во втором – s_{ni} выбирались для воспроизведения экспериментальной

зависимости, полученной методом дифракции рентгеновских лучей (см. таблицу). Результаты суммирования пятидесяти гауссианов в двух вариантах показаны на рис. 8, а, б. Воспроизведение экспериментальных кривых суммой гауссианов в области ближайшего окружения центральной молекулы оказывается более точным, если учитывать различие в энергии связи молекул в кластере и между кластерами.

Расчетные кривые достаточно точно совпадают с экспериментальными зависимостями. Обращает на себя внимание соразмерность радиуса ($\sim 7 \text{ \AA}$), в пределах которого наблюдаются отчетливые отклонения экспериментальной зависимости $g_{00}(R)$ от единицы, и наибольшего расстояния между молекулами воды в кластере - $6,366 \text{ \AA}$ (рис. 9, а).

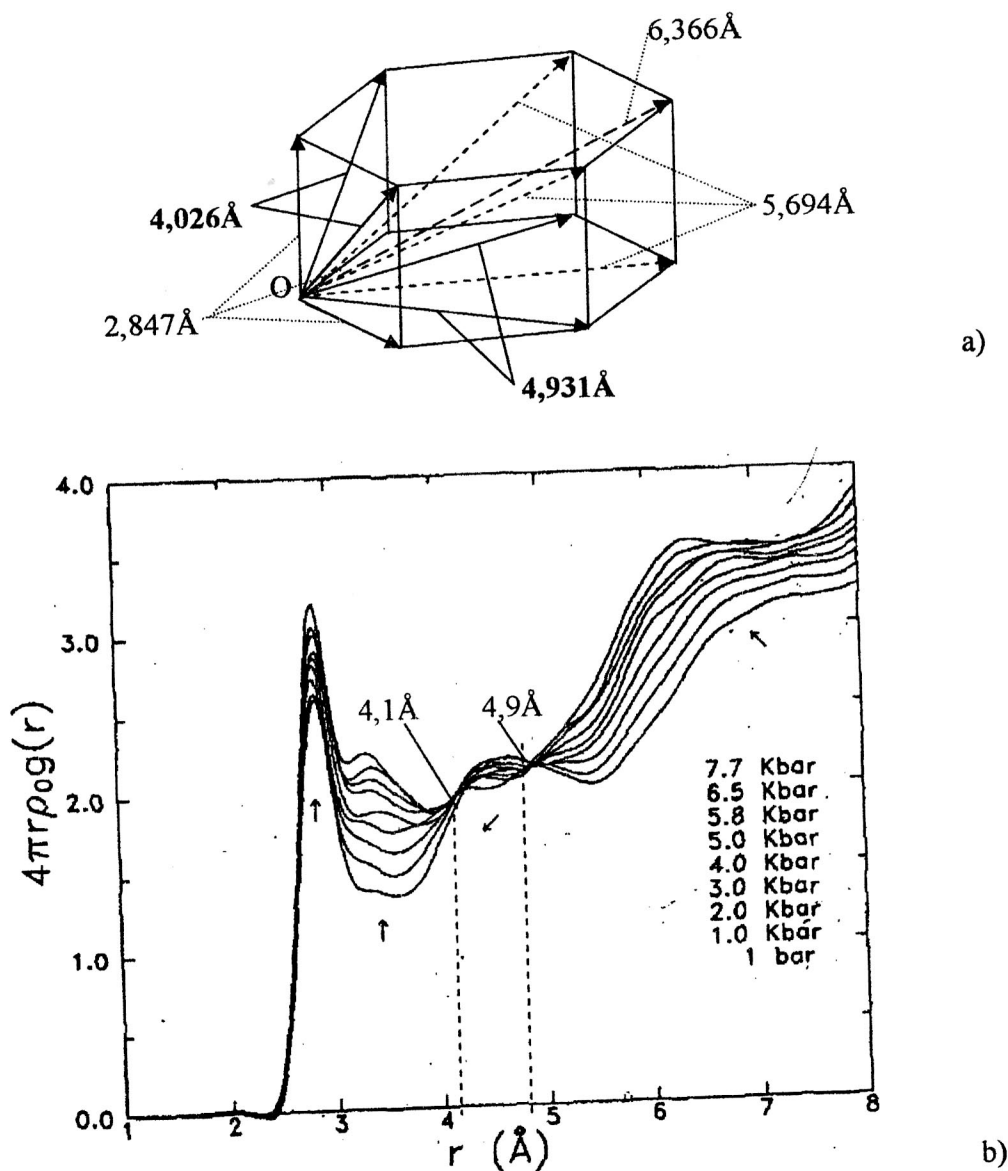


Рис. 9. а) шестигранная призма, в вершинах которой расположены центры атомов кислорода кластера-12; б) радиальная функция распределения $4\pi R\rho g_{00}(R)$ [25]

Отметим значения радиусов, для которых $g_{OO}(R)$ равна единице [23]: 4,025 Å; 5,075 Å; 6,275 Å. На таких расстояниях от центральной молекулы локальная плотность молекул воды равна ее средней плотности. В кластере-12 относительно любой его молекулы другие удалены примерно на такие же расстояния: 4,026 Å; 4,931 Å; 6,366 Å рис. 9, а. Особый интерес представляют первые две пары молекул, удаленные от центральной молекулы на расстояния 4,026 Å и 4,931 Å. Для функции радиального распределения вида $4\pi R^2 g_{OO}(R)$ (т.е. функции, которая относит молекулы на сфере радиуса R не к ее поверхности, а к удвоенной длине окружности того же радиуса) на этих радиусах находится по две молекулы воды рис. 9, б. В кластере-12 примерно на таких расстояниях расположено также по две молекулы воды рис. 9, а. Если при изменении внешних условий кластер не разрушается, то эти радиусы должны соответствовать изобестическим точкам. По-видимому, именно такая ситуация представлена на графике рис. 9, б, взятом из работы [25], где изображен ряд наложенных друг на друга соответствующих функций радиального распределения воды, снятых при разных давлениях и постоянной температуре.

Заключение

Суммируя изложенное в данной работе, можно сказать, что представление воды в виде сложных объемных сетей не отдельных молекул H_2O , а кластеров-12 позволяет связать многие свойства воды, в том числе и аномальные, с ее структурой. Плотность кластера-12 практически равна средней плотности воды при заданной температуре. Определена геометрия конформеров кластера-12 и показана его стабильность. Дано физически ясное представление об аномалии плотности воды при $-4^\circ C$. Расчетная функция радиального распределения $g_{OO}(R)$ для предложенной структуры хорошо совпадает с экспериментальной. Время диэлектрической релаксации воды определяется временем последовательных перескоков протонов всех молекул кластера-12 по замкнутой цепочке. Кластер-12 – мельчайшая частица воды, обладающая ее основными свойствами.

Авторы выражают благодарность рецензенту проф. А.К. Ляшенко за интерес к работе и полезные замечания.



Литература

1. **Эйзенберг А., Кауцман В.** Структура и свойства воды, Пер. с англ., Под ред. **Богородского В.В.**, Л. Гидрометеиздат, 1975, 280 с.
2. **Маленков Г.Г.** Структура воды – Сб. Физическая химия, Современные проблемы, Изд. «Химия», М., 1984, с. 41-76.
3. **Eucken A., Elektrochem Z.**, Bd.52, № 4, 1948, p. 255-261.
4. **Самойлов О.Я.** Структура водных растворов электролитов и гидратация ионов, М., Изд. АН СССР, 1957, 180 с.
5. **Богданов Е.В., Мантрова Г.М.** Эквикластерная модель воды – Биомедицинская радиоэлектроника, 2000, №7, с. 19-28.
6. **Богданов Е.В., Мантрова Г.М.** Некоторые свойства воды с позиций эквикластерной модели – Миллиметровые волны в биологии и медицине, 2002, №3(27), с. 28-40.

7. **Паулинг Л.** Природа химической связи, М.- Л., Госхимиздат, 1947, 440 с.
8. Анораникум, в 2-х т., т. 1, Пер. с нем – Под ред. **Кольдига А.**, М., Мир, 1984, 672 с.
9. **Walrafen G.E., Yang W.H., Chu Y.C. and Hokmabadi M.S.** Raman OD-stretching overtone spectra from liquid D₂O between 22 and 152°C, - J. Phys. Chem. 1996, V.100, № 4, p. 1381-1391.
10. Физический энциклопедический словарь, М., Изд. "Сов. Энци.", 1960, т. 2, с. 422; т. 3, с. 292.
11. **Шеффер К., Матосси Ф.** Инфракрасные спектры, Л.-М., ОНТИ, 1935, 342 с.
12. **Маэно Н.** Наука о льде (Пер. с яп.) - М., Мир, 1988, 231 с.
13. **Синицын Н.И., Петросян В.И., Ёлкин В.А., Девятков Н.Д., Гуляев Ю.В., Бецкий О.В.** Особая роль системы «миллиметровые волны – водная среда» в природе, Биомедицинская радиоэлектроника, 1998, №1, с. 5-23.
14. **Pople J.A.** Proc. Roy. Soc., 1951, V. A 205, p. 163.
15. **Sceats M.G., Rice S.A.** The water-water pair potential near the hydrogen bonded equilibrium configuration, J. Chem. Phys. 72(5), 1 Mar. 1980, p. 3236-3247.
16. **Radhakrishnan T.P., Herndon W.C.** J. phys. chem., 1991, V.95, p. 10609-10617.
17. **Киров М.В.** Журн. структурной химии, 1996, т. 37, №1, с. 98-106.
18. **Anick D.J.** Polyhedral water cluster, I: Formal consequences of the ice rules, J. Mol. Struct. (Theochem), 2002, p. 87-96.
19. **Фрёлих Г.** Теория диэлектриков (Пер. с англ.) – Под. ред. **Сканави Г.И.**, Изд. ИЛ, М., 1960, 251 с.
20. **Chen S.H., Teixeira J.** Structure and dynamics of low-temperature water as studied by scattering techniques, Adv. Chem. Phys., 1986, V.5, p. 1-56.
21. **Krynicky K.** Physica, 1966, V. 32, p. 167.
22. **Френкель Я.И.** Кинетическая теория жидкостей, М.-Л.: Изд. АН СССР, 1945 г.
23. **Soper A.K. and Phillips M.G.** A new determination of the structure of water at 25°C, - Chem. Phys., 1986, V. 107, p. 47-60.
24. **Горбатый Ю.Е., Демьянец Ю.Н.** Рентгенодифракционные исследования строения жидкой и надкритической воды при высоких температурах и давлениях, II Функции радиального распределения молекулярной плотности и парные корреляционные функции - Жур. структур. хим., 1983, т. 24, №3, с. 66-74
25. **Okhulkov A.V., Demianets Yu.N. and Gorbaty Yu.E.** X-ray scattering in liquid water at pressure of up to 7,7 kbar: Test of a fluctuation model, - J. Chem.Phys., 1994, V. 100, №2, 15 January, p. 1578-1588.

The permolecular structures of water

Bogdanov E.V., Mantrova G.M.

The cluster model of water is presented in the paper. The conformer geometry of the cluster-12 is determined and its stability is considered. It is shown that the dielectric relaxation time is defined by the time of the consequent proton transitions along the hydrogen bonds. The radial distribution function g_{OO} is calculated.

К вопросу об участии оксида азота в процессах микроволнового воздействия на биоэлектрическую активность мозга



Сидоренко А. В., Казакевич В. Б., Селицкий А. П.

Белорусский государственный университет, Минск

Проведены экспериментальные исследования по определению воздействия микроволнового излучения, гемоглобина и ингибитора NO – синтазы (L-нитроаргинина) на биоэлектрическую активность мозга. Обработка и анализ экспериментально полученных электрокортикограмм проводились на основе методологии нелинейной динамики и спектрального корреляционного анализа в разработанной нами информационно-измерительной системе. Изменения функционального состояния центральной нервной системы крыс, отображенные в структуре электрокортикограмм, при действии указанных выше факторов определялись по информационным показателям нелинейной динамики: корреляционной размерности и энтропии Колмогорова, а также по уровню ритмических составляющих спектра электрокортикограмм.

Полученные нами в процессе исследований на животных результаты позволяют сделать предположения о возможном участии в процессах микроволнового воздействия на биоэлектрическую активность мозга монооксида азота.

Усиление электромагнитного фона и широкое применение электромагнитных излучений в лечебной и диагностической практике приводят к необходимости экспериментального изучения влияния таких излучений на деятельность основных систем организма и, прежде всего, центральной нервной системы [1, 2].

Особенно актуальной является проблема комбинированного влияния излучений и фармакологических препаратов на организм человека и животных в силу появления на практике модифицирующих эффектов или эффектов возникновения обратной направленности действия препаратов.

Проведенные нами исследования показали, что в сочетании с аминазином (препаратом седативного действия) и пикротоксином (препаратом аналептического действия) в экспериментах на животных наблюдается появление эпилептиформной активности [3, 4] или снятие такой активности при действии микроволнового излучения [5].

В настоящее время усилия ученых направлены на изучение вновь открытого внутриклеточного мессенджера оксида азота, являющегося универсальным регулятором физиологических и метаболических процессов как в отдельной клетке, так и в организме в целом [6]. В коре головного мозга имеются условия для генерации молекулы оксида азота. Это подтверждается наличием эндотелиальной формы NO-синтазы в 60% нейронов коры [7]. NO-синтазная функция эндотелия играет существенную роль в работе кровеносных сосудов мозга. Взаимодействие оксида азота с гемоглобином в эритроцитах крови определяет время жизни и расстояние, на котором действует оксид азота в тканях.

Целью работы является выявление участия монооксида азота в процессах центральной нервной системы, проявляющихся в изменениях биоэлектрической активности мозга, при комбинированном действии микроволн и экзогенного гемоглобина.

Методика

Экспериментальные исследования проводились на 32 белых крысах массой 200-250 г. При проведении эксперимента животным под уретановым наркозом (1 г/кг, внутривенно) устанавливались электроды в соматосенсорную кору обоих полушарий мозга. Облучение модулированным или непрерывным микроволновым излучением проводилось в режиме: частота излучения 42,2 ГГц, частота модуляции 1 Гц, плотность потока мощности 150 мкВт/см². В экспериментах был использован коммерческий препарат гемоглобина в концентрации 1 мМ (по гему), а также гемоглобин, содержащийся в свежем гемолизате крови крыс в той же концентрации. Аппликацию гемоглобина осуществляли через канюлю, расположенную рядом с активным электродом, в объеме 5 мкл. В экспериментах был также использован ингибитор NO-синтазы — L-нитроаргинин. Введение L-нитроаргинина осуществлялось в дозе 10 мг/кг, внутривенно.

Регистрация и обработка электрокортикограмм производились в разработанной нами информационно-измерительной системе [8]. При анализе электрокортикограмм использовались методы задержанной координаты и спектрально-корреляционный [3]. В процессе автоматизированной обработки экспериментальных данных рассчитывались: корреляционная размерность D2, энтропия Колмогорова E, максимальная частота спектра f_m , спектральная плотность мощности ритмических компонент мозга в дельта-, тета-, альфа-, бета-, гамма-диапазонах. Вычисление корреляционной размерности, энтропии Колмогорова производились согласно алгоритму Гроссберга-Прокаччо. Достоверность определения корреляционной размерности и энтропии Колмогорова оценивалась

при использовании дискриминационной статистики [3].

Результаты

Проведенный нами цикл экспериментальных исследований электрокортикограмм животных, отражающих изменения в деятельности их центральной нервной системы, показал наличие существенных различий в значениях уровней спектральной плотности мощности при действии микроволнового излучения миллиметрового диапазона [4] и гемоглобина (рис. 1).

Результаты, приведенные на графиках, а также в табл. 1 [4] показывают, что действие электромагнитного излучения на наркотизированное животное приводит к понижению уровня дельта- и тета-ритмов при повышении вклада альфа-, бета- и гамма-ритмов.

Максимальная частота спектра при этом повышается. Повышаются значения параметров нелинейной динамики: корреляционной размерности D2 и энтропии Колмогорова E. Это указывает на то, что в условиях действия микроволнового излучения в мозге преобладают процессы активизации, его реактивность возрастает, то есть можно говорить о повышении степени динамичности в центральной нервной системе и ее переходе в функционально более сложное состояние.

Влияние гемоглобина как коммерческого, так и полученного из гемолизата крови (в большей степени) сводилось к повышению интенсивности дельта-ритма к концу пятой минуты действия при снижении уровня тета-, альфа-, бета- и гамма-ритмов (рис. 1). Анализ результатов, приведенных в табл. 1, показывает, что возрастание дельта-ритма сопровождается также уменьшением максимальной частоты спектра, что свидетельствует о снижении динамичности процессов в

головном мозге. Поведение параметров нелинейной динамики указывает также на снижение количества степеней свободы системы (уменьшение корреляци-

онной размерности) и снижение устойчивости системы (возрастание энтропии Колмогорова) (рис. 2, 3).

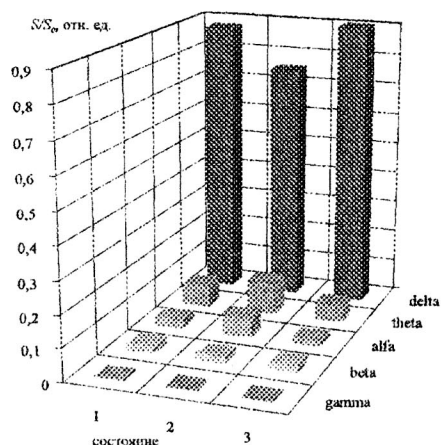


Рис. 1. Гистограмма распределения спектральных составляющих дельта-, тета-, альфа-, бета-, гамма-ритмов электрокортикограмм крысы при действии гемоглобина (в дозе 1 мМ/л): 1 – контроль, 2 – состояние на третьей минуте, 3 – состояние на пятой минуте действия.

Таблица 1

Изменения параметров электрокортикограммы крысы при действии гемоглобина (в концентрации 1 мМ (по гему)) и миллиметрового излучения (частота излучения 42, 2 ГГц, частота модуляции 1 Гц, плотность потока мощности 150 мкВт/см²)

Минута наблюдения	Спектральная плотность мощности ритмов, отн. ед.				f_m , Гц	D2
	дельта-ритм (0,5...4), Гц	тета-ритм (4...8), Гц	альфа-ритм (8...12), Гц	бета-ритм (12...30), Гц		
К	0,877±0,015	0,068±0,010	0,029±0,011	0,021±0,008	1,27±0,15	2,581±0,017
3	0,751±0,013	0,099±0,015	0,057±0,009	0,018±0,012	1,75±0,14	2,614±0,019
5	0,899±0,012	0,052±0,013	0,017±0,010	0,027±0,01	1,17±0,21	2,607±0,018
1	0,830±0,024	0,089±0,02	0,025±0,017	0,051±0,009	0,59±0,10	2,597±0,078
3	0,782±0,019	0,119±0,018	0,055±0,017	0,039±0,011	1,07±0,17	2,564±0,08
5	0,863±0,022	0,0758±0,071	0,031±0,014	0,026±0,012	1,17±0,18	2,583±0,091
7	0,539±0,020	0,264±0,02	0,063±0,013	0,117±0,009	3,71±0,2	2,635±0,083

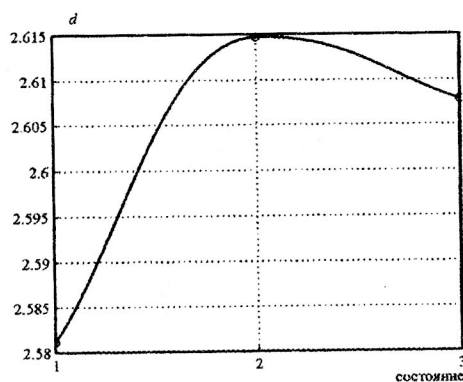


Рис. 2. Динамика корреляционной размерности D2 электрокортикограммы при действии гемоглобина (в дозе 1 мМ/л): 1 – контроль, 2 – состояние на третьей минуте, 3 – состояние на пятой минуте действия.

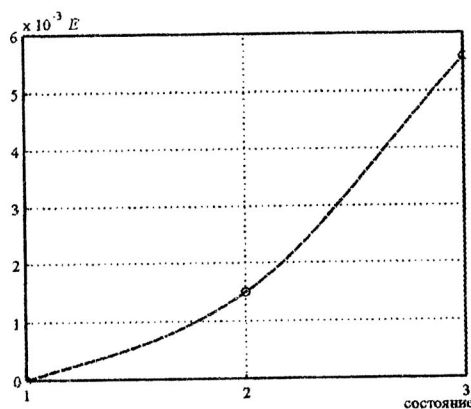


Рис. 3. Динамика энтропии Колмогорова E электрокортикограммы при действии гемоглобина (в дозе 1 мМ/л): 1 – контроль, 2 – состояние на третьей минуте, 3 – состояние на пятой минуте действия.

Полученные данные с применением гемолизата хорошо согласуются с известными наблюдениями клиницистов о том, что при субарахноидальных кровоизлияниях и инсультах в острой стадии на электроэнцефалограмме преобладает дельта-ритм [9]. Можно предположить, что изменение электрической активности в коре при воздействии гемоглобина и кровоизлияниях, по крайней мере, частично обусловлено снижением уровня оксида азота. Известно, что в коре головного мозга этот медиатор оказывает в основном активирующее влияние [10].

Комбинированное действие модулированного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона и гемоглобина приводило к гораздо более

выраженным и противоположным по знаку изменениям в биоэлектрической активности мозга животного (рис. 4).

На седьмой минуте совместного действия обоих факторов происходит резкое возрастание активности при увеличении вклада альфа-, бета-ритмов и снижение интенсивности дельта-ритма. В этом же состоянии наблюдалось возрастание показателей нелинейной динамики (рис. 5, 6).

При использовании немодулированного микроволнового излучения указанный эффект отсутствовал. К пятнадцатой минуте при действии гемоглобина и микроволнового излучения значения параметров практически восстанавливались.

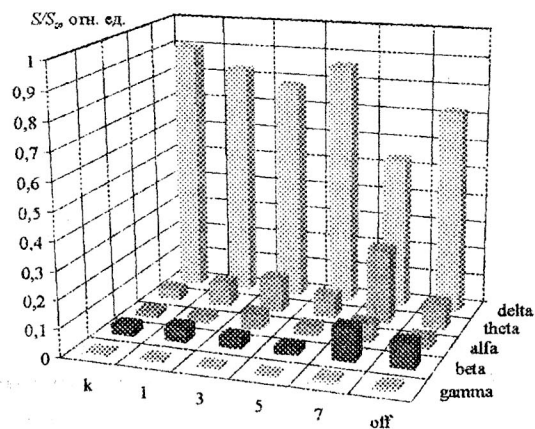


Рис. 4. Гистограмма распределения спектральных составляющих дельта-, тета-, альфа-, бета-, гамма-ритмов электрокортикограмм крысы при действии микроволнового излучения (частота 42,2 ГГц, частота модуляции 1 ГГц, плотность потока мощности 150 мкВт/см²) и гемоглобина (в дозе 1 мМ/л).

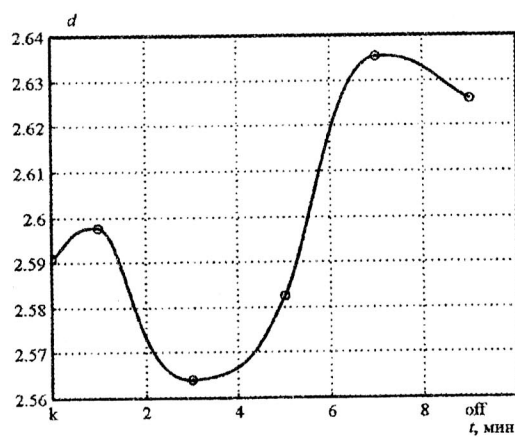


Рис. 5. Динамика корреляционной размерности D2 электрокортикограммы при действии микроволнового излучения (частота 42,2 ГГц, частота модуляции 1 ГГц, плотность потока мощности 150 мкВт/см²) и гемоглобина (в дозе 1 мМ/л).

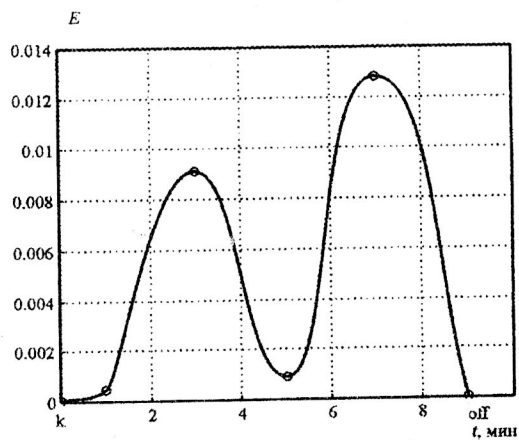


Рис. 6. Динамика энтропии Колмогорова E электрокортикограммы при действии микроволнового излучения (частота 42,2 ГГц, частота модуляции 1 ГГц, плотность потока мощности 150 мкВт/см²) и гемоглобина (в дозе 1 мМ/л).

Экспериментальные исследования, проведенные нами по воздействию ингибитора NO-синтазы L-нитроаргинина, комбинированного воздействия указанного ингибитора и микроволнового излучения (режим облучения и дозировка препарата те

же) на биоэлектрическую активность мозга крыс, показали, что эффект активизации в деятельности головного мозга под действием микроволнового излучения на седьмой-восьмой минутах, отсутствует. Результаты данного эксперимента приведены в табл. 2.

Таблица 2

Изменения параметров электрокортикограммы крысы при действии L-нитроаргениума (в концентрации 10 мг/кг) и миллиметрового излучения (частота излучения 42, 2 ГГц, частота модуляции 1 Гц, плотность потока мощности 150 мкВт/см²)

Минута наблюдения	Спектральная плотность мощности, ритмов, отн. ед.				f _m , Гц	D2
	дельта-ритм (0,5...4), Гц	тета-ритм (4...8), Гц	альфа-ритм (8...12), Гц	бета-ритм (12...30), Гц		
К	0,806± 0,016	0,1016± 0,012	0,041± 0,013	0,039± 0,009	0,68± 0,15	2,794± 0,017
1	0,771± 0,014	0,134± 0,013	0,043± 0,010	0,039± 0,015	1,07± 0,14	2,778± 0,019
3	0,850± 0,013	0,063± 0,017	0,027± 0,013	0,050± 0,011	0,49± 0,21	2,797± 0,018
5	0,797± 0,015	0,099± 0,012	0,039± 0,010	0,055± 0,014	0,78± 0,16	2,797± 0,017
1	0,768± 0,021	0,148089± 0,023	0,035± 0,019	0,042± 0,010	1,26± 0,18	2,797± 0,065
3	0,795± 0,020	0,110± 0,021	0,036± 0,019	0,049± 0,013	0,6807± 0,19	2,778± 0,074
5	0,778± 0,026	0,082± 0,023	0,045± 0,016	0,084± 0,009	1,85± 0,21	2,797± 0,082
7	0,777± 0,025	0,109± 0,03	0,046± 0,015	0,052± 0,010	0,78± 0,22	2,775± 0,085

Обсуждение

Из литературных источников известно, что микроволновое излучение низкой интенсивности способно вызывать конформационные переходы в гемоглобине [11, 12]. Однако во время проведения тех экспериментов не было сведений о том, что гемоглобин является буфером NO в крови, и это играет определенную роль в процессах газотранспортной функции крови. В настоящее время установлено, что моно-

оксид азота взаимодействует с гемоглобином, образуя железонитрозильный гемоглобин и S-нитрозо-гемоглобин. Это взаимодействие не уничтожает активность NO, а способствует ее консервации и транспортировке. Конформационные переходы в гемоглобиновой молекуле (переход из расслабленной конформации оксигемоглобина в напряженную) при деоксигенации содействуют высвобождению NO в тканях и вазорелаксации [13-15]. Полифункциональность NO обусловлена выполнени-

ем его в организме сигнальных, цитопротекторных и антиоксидантных функций [16]. Количество запасенного в гемоглобине монооксида азота весьма высоко (около 1 мкМ [17]), что более чем достаточно для реализации NO-зависимых процессов. Результаты, полученные нами, свидетельствуют о том, что влияние гемоглобина сводится к снижению активности мозговых процессов. Действие же микроволнового излучения при аппликации гемоглобина сопровождается выраженной активацией синаптических процессов в коре головного мозга. При этом отмечается значительное возрастание уровня альфа- и бета-ритмов. Таким образом, существуют веские основания предполагать, что именно монооксид азота высвобождается из гемоглобина при микроволновом воздействии на мозг, что и приводит к некоторой активации биоэлектрических процессов в коре головного мозга. Аппликация гемоглобина без микроволнового излучения должна приводить к существенному уменьшению базального уровня монооксида азота в коре головного мозга, что, вероятно, и приводит к снижению уровня биоэлектрической активности.

В пользу этого предположения свидетельствуют результаты серии экспериментов с применением ингибитора NO-синтазы L-нитроаргинина. Известно, что L-нитроаргинин является необратимым ингибитором конститутивных NO-синтаз. Он ингибирует практически полностью базальную продукцию монооксида азота эндотелиальными и нервными клетками на длительное время (до нескольких дней) [18, 19]. Время полужизни NO-производных гемоглобина по данным разных авторов состав-

ляет 15-40 мин [20, 21]. Эти факты позволяют предположить, что концентрация NO-производных гемоглобина в мозге и крови в условиях хронического ингибирования синтеза монооксида азота значительно снижена. В наших экспериментах невозможно было вызвать эффект действия микроволн, обычно наблюдаемый на седьмой – восьмой минутах облучения у крыс, подвергнутых воздействию ингибитора NO-синтазы.

Заключение

Полученные нами в процессе исследований на животных результаты позволяют сделать предположение о возможном участии в процессах микроволнового воздействия на биоэлектрическую активность мозга монооксида азота. Экспериментальные исследования по определению воздействия микроволнового излучения, гемоглобина и ингибитора NO-синтазы (L-нитроаргинина) осуществлялись в разработанной нами информационно-измерительной системе. Обработка и анализ экспериментально полученных электрокортикограмм крыс проводились на основе методологии нелинейной динамики и спектрального корреляционного анализа. Изменения функционального состояния центральной нервной системы крыс, отображенные в структуре электрокортикограмм, при действии указанных выше факторов определялись по информационным показателям нелинейной динамики: корреляционной размерности и энтропии Колмогорова, а также по уровню мощности ритмических составляющих спектра электрокортикограмм.

Литература

1. *Бецкий О.В., Кислов В.В., Лебедева Н.Н.* Миллиметровые волны

и живые системы, Сайенс-Пресс, М.: 2004, 272 с.

2. **Пономаренко Г.Н.** Физиотерапия: современные тенденции развития, М.: 2005, 230 с.
3. **Сидоренко А.В.** Методы информационного анализа биоэлектрических сигналов, Мн.: Белгосуниверситет, 2003, 189 с.
4. **Сидоренко А.В., Царюк В.В.** Влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на биоэлектрическую активность мозга – Радиационная биология, Радиоэкология, 2002, т. 42, № 12, с. 546-550.
5. **Сидоренко А.В., Казакевич В.Б., Селицкий А.П.** Влияние микроволнового излучения на биоэлектрическую активность мозга в условиях действия пикротоксина. – Биомедицинские технологии и радиоэлектроника, 2006, № 5-6, с. 92-98.
6. **Снайдер С.Х., Бредт Д.С.** Биологическая роль оксида азота – В мире науки, 1997, № 7, с. 15-24.
7. **Yousef T, Neubacher U, Eysel UT, Volgushev M.** Nitric oxide synthase in rat visual cortex: an immunohistochemical study – Brain Res. Brain Res. Protoc., 2004, v. 13, p. 57-67.
8. **Сидоренко А.В., Шадинцев А.А.** Измерительно-вычислительный комплекс для оценки динамики функционального состояния центральной нервной системы – Биомедицинская радиоэлектроника, 2001, № 2, с. 66-71.
9. **Лебедев В.В., Куксова Н.С., Крылов В.В., Мятчин М.Б.** Информативность ЭЭГ в остром периоде субарахноидального кровоизлияния вследствие разрыва внутричерепных аневризм – Вопросы нейрохирургии, 1989, № 5, с. 44-48.
10. **Kara P., Friedlander MJ.** Arginine analogs modify signal detection by neurons in the visual cortex – J. Neurosci, 1999, v. 19, p. 5528-5548.
11. **Андреева А.П., Дмитриева М.Г., Ильина С.А.** Влияние СВЧ-излучения малой мощности на гемоглобин – Электронная техника, Серия Электроника СВЧ, 1971, Вып.11, с. 121-123.
12. **Диденко Н.П., Зеленцов В.И., Ча В.А.** О конформационных изменениях биомолекул при взаимодействии с электромагнитным излучением – Сб. статей "Эффекты нетеплого воздействия миллиметрового излучения на биологические объекты" – Под ред. Девяткова Н.Д., М.: ИРЭ АН СССР, 1983, с. 63-77.
13. **Stamler J.S. et al.**, Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient – Science, 1997, v. 276, p. 2034-2037.
14. **Pawloski J.R., Hess D.T., Stamler J.** Export by red blood cells of nitric oxide bioactivity – Nature, 2001, vol. 409, p. 622-626.
15. **Doctor A.** Hemoglobin conformation couples erythrocyte S-nitrosothiol content to O₂ gradients PNAS, 2005, vol. 102, p. 5709-5714.
16. **Chiueh C.** Neuroprotective properties of nitric oxide – Ann. N. Y. Acad. Sci, 1999, v. 890, p. 301-11.
17. **Datta B.** Red Blood Cell Nitric Oxide as an Endocrine Vasoregulator – Circulation, 2004, v. 109, p. 1339-1342.
18. **Dwyer M.A., Bredt D.S., Snyder S.H.** Nitric oxide synthase: irreversible inhibition by L-N^G-nitro-arginine in the brain *in vitro* and *in vivo* – Biochem. Biophys. Res. Commun, 1991, v. 176, № 3, p. 1136 - 1141.
19. **Traystman RJ, Moore LE, Helfaer MA, Davis S, Banasiak K, Williams M, Hum PD.** Nitro-L-arginine analogues. Dose- and time-related nitric oxide synthase inhibition in brain – Stroke, 1995, v. 26, № 5, p. 864-869.
20. **Aldini G, Orioli M, Maffei Facino R, Giovanna Clement M, Albertini M, Mazzola S, Pirrone F, Carini M.** Nitrosylhemoglobin formation after in-

fusion of NO solutions: ESR studies in pigs – Biochem Biophys Res Commun, 2004, v. 318, № 2, p. 405-414.

21. *Piknova B, Gladwin MT, Schechter AN, Hogg N.* Electron

paramagnetic resonance analysis of nitrosylhemoglobin in humans during NO inhalation – J Biol Chem, 2005, v. 280, №49, p. 40583-40588.

The problem of oxide nitrogen participation in the processes of microwave action to bioelectric brain activity

Sidorenko A.V., Kazakevich V.B., Selitsky A.P.

The experimental investigation of EHF, haemoglobin and inhibitor NO-sintase (L-nitroargenine) action to bioelectric brain activity is shown in the paper. The processing and analysis of experimental electrocorticograms were conducted by elaborated information-measuring system. The method of nonlinear dynamics and spectral correlation analysis were used. The functional states changes of central nervous system have been determined by information parameters: correlation dymension and Kolmogorov entropy. The parameters of rhythmic components intensities (by spectral correlation method) have been also calculated.

The results obtained allowed us to assume the possibility of NO participation in the process of microwave effect to bioelectric brain activity.

Сочетанное применение противоэpileптического препарата и миллиметровой (ММ) терапии для лечения и профилактики вторично-генерализованных приступов при эpileпсии у фармакорезистентных больных



Пашнин А. Г.

РГМУ, г. Москва

Впервые экспериментально доказана и клинически подтверждена патогенетическая обоснованность применения низкодозированного ММ-излучения и его высокая эффективность при курсовом лечении пациентов со вторично-генерализованными эpileптическими приступами. Исследованный способ лечения и профилактики позволит снизить эффективную дозу препарата и избежать побочных токсических эффектов и снизить стоимость лечения. ММ-терапия является одним из основных методов при комбинированном лечении и профилактики вторично-генерализованных приступов при фармакорезистентной эpileпсии.

Эpileпсия является самым распространенным из серьезных расстройств головного мозга и одним из наиболее частых заболеваний вообще. В популяции число людей, страдающих эpileпсией, составляет 5-10 человек на 1000. При этом не менее одного приступа в течение жизни переносят 5% населения и у 20-30% больных заболевание является пожизненным [1-5].

Бурное развитие нейрофармакологии, синтез новых высокоэффективных антиконвульсантов, принципиальный пересмотр многих механизмов лечения эpileпсий, позволили повысить эффективность противоэpileптической терапии и улучшить прогноз заболевания. Тем не менее, эффективность терапии во всем мире в настоящее время пока не превышает 70-75%, применение базисных противоэpileптических препаратов широкого спектра действия осложняется усилением побочных эффектов. Это становится причиной уменьшения дозы препарата, что вызывает уменьшение эффективности лечения.

Несмотря на серьезный прогресс в изучении патогенеза, в диагно-

стике и лечении эpileпсии, до 30% пациентов в наиболее богатых странах мира и до 60% в России относятся к случаям, в которых не удастся добиться контроля над приступами и адекватной социальной адаптации [6]. Вообще фокальные эpileпсии с соответствующими структурными нарушениями, обнаруживаемыми нейровизуальными методами, наиболее часто оказываются фармакорезистентными, к биологическим факторам которых можно отнести и трудности терапии в связи с индивидуальной непереносимостью лекарственных препаратов. Очень часто попытки лечения фармакорезистентных эpileпсий простым добавлением все новых препаратов и в недостаточных дозах могут дать неблагоприятный результат.

В связи с выше изложенным, представляется целесообразным исследовать возможность комбинированного лечения, а именно сочетанное применение противоэpileптического препарата и миллиметровой (ММ) терапии для лечения и профилактики вторично-генерализованных приступов при эpileпсии у фармакорезистентных больных.

Материалы и методы

Экспериментальное и клиническое исследования проводились на кафедре неврологии и нейрохирургии с курсом ФУВ и медицинской генетики ГОУ ВПО Российского государственного медицинского университета МЗ РФ в условиях двух неврологических отделений городской клинической больницы №1 им. Н.И. Пирогова.

В исследовании принимало участие 104 человека, в возрасте от 20 до 45 лет. Мужчин было 58, женщин – 46 человек. Обследуемых разделили на три группы:

I группу составили практически здоровые люди (контроль I) – 20 человек;

II группу – больные с фармакорезистентной эпилепсией, получавшие традиционное лечение (контроль II) – 29 человек;

III группу составили больные с фармакорезистентной эпилепсией, которым кроме фармакологического лечения, проводили ММ-терапию – 55 человек.

Все группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Больные с фармакорезистентной эпилепсией – 84 человека (II и III группы), относились, по Международной классификации эпилепсий, эпилептических синдромов и схожих заболеваний (1989 год, Нью-Дели), к группе 3 – “формы эпилепсии, не имеющие четкой классификации как парциальные или генерализованные”, подгруппе 3.1. – “имеющие как генерализованные, так и парциальные проявления”, классу “другие неклассифицируемые формы эпилепсии, не определенные выше” (Табл. 1).

Таблица 1

Распределение больных эпилепсией согласно международной классификации эпилепсий и эпилептических синдромов

Характеристика приступов	Кол-во больных (%)
Простые парциальные и вторично-генерализованные приступы	8 (9,6%)
Сложно-парциальные и вторично-генерализованные приступы	40 (47,6%)
Простые парциальные, сложно-парциальные и вторично-генерализованные приступы	31 (36,9%)
Вторично-генерализованные приступы	5 (5,9%)

Длительность заболевания колебалась от 10 лет до 2 лет. С учетом анамнеза, возраста, дебюта и типа приступов, клинических данных, а также результатов компьютерной или магнитно-резонансной томографии, криптогенная локально-обусловленная (условно, симптоматическая) эпилепсия при отсутствии структурной патологии головного мозга диагностиро-

вана у 10 пациентов II группы (II А) и у 19 пациентов III группы (III А), симптоматическая посттравматическая локально-обусловленная – 19 пациентов II группы (II Б) и у 36 пациентов III группы (III Б).

Пациенты II и III группы получали базисную противоэпилептическую терапию, включающую дезапкин, клоназепам, финлепсин, фенобарби-

тал: как в виде монотерапии, так и их комбинации.

ММ-воздействие осуществляли аппаратом миллиметровой терапии "КВЧ – МГА" фирмы ЗАО "КВЧ – МГА" как здоровым, так и пациентам III группы по следующей схеме. Длина волны 4,9 мм (61,2 ГГц), локализа-

ция – на точку воротниковой зоны (БАТ, Т-14), экспозиция 20 минут. Курс лечения составил 15 сеансов с частотой 2 раза в неделю.

Всем пациентам, а также здоровым людям проводили ЭЭГ-обследование по следующей методике (Табл. 2).

Таблица 2

Дизайн исследования

Методы обследования	Методы оценки
<p><u>ЭЭГ:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> – 16 активных электродов, монополярно; – индифферентные электроды на мочках ушей; – две функциональные пробы – гипервентиляция и фотостимуляция <p><u>Циклограмма исследования:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> – фон (базисная медикаментозная терапия) – после курса ММ-терапии (2 мес.) – через 6 мес. после курса ММ-терапии 	<p><u>Спектрально-корреляционный анализ</u> (на основе быстрого преобразования Фурье)</p> <p><u>Метод нелинейной динамики</u> – расчет глобальной корреляционной размерности D2 (энтропия Колмогорова (K2), экспонента Ляпунова (L), нелинейное предсказание (p))</p> <p><u>Эпохи анализа:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> – до функциональных проб – во время функциональных проб – после функциональных проб

Регистрация ЭЭГ проводилась в стандартных условиях – в затемненной, защищенной от помех комнате, в удобном кресле и в положении испытуемого сидя с закрытыми глазами в состоянии расслабленного бодрствования. Применялся монополярный способ отведения потенциалов с размещением индифферентных электродов на мочках ушей. 16 активных электродов располагались в соответствии с международной системой Джаспера "10-20", с охватом основных зон поверхности головы, соответствующих следующим корковым зонам: затылочным, теменным, центральным, лобным, лобным полюсным, передне-височным, средне-височным и задне-височным областям правого и левого

полушария. Наряду с монополярной записью ЭЭГ с использованием ушных электродов, проводилась также биполярная регистрация. Применялись две функциональные пробы: проба с гипервентиляцией и проба с фотостимуляцией (в соответствии с общепринятыми правилами, см. пособие Г.Н. Авакяна "Тактика ведения и дополнительные возможности терапии (медикаментозной и немедикаментозной) больных эпилепсией"). Использовался 16-ти каналный нейтрограф "МВН" (NMN "MBN", г. Москва), работающий на базе IBM-PC Pentium III с установленными фильтрами на 32 Гц и постоянной времени 0.03.

При визуальном анализе оценивалось изменение нормальных ком-

понентов ЭЭГ, а также наличие патологических форм активности. Определялась локализация и выраженность патологических изменений, их реакция на функциональные пробы. При изучении влияния ММ-воздействия регистрация ЭЭГ производилась до воздействия (контрольное обследование), после 15 сеансов ММ-терапии, через 6 месяцев.

Первичный анализ ЭЭГ осуществлялся с помощью соответствующих программ. Программный комплекс выполнял следующие функции: ввод в компьютер многоканальной ЭЭГ и ее визуальное редактирование; фильтрацию, выделение артефактов и их устранение из анализируемого отрезка ЭЭГ; спектральный и корреляционный анализ ЭЭГ и статистическую обработку полученных результатов.

Для нанесения световых раздражений использовались фотостимуляторы. Для фотостимуляции обычно используют короткие (порядка 150 мкс) вспышки света, близкого по спектру к белому, достаточно высокой интенсивности (0,1-0,6 Дж). Некоторые системы фотостимуляторов позволяют изменять интенсивность вспышек света. Помимо одиночных вспышек света, фотостимуляторы позволяют предъявить по желанию серии одинаковых вспышек желаемой частоты и продолжительности.

Другая группа функциональных проб связана с воздействием на внутреннее состояние организма путем изменения его метаболизма, фармакологических или некоторых механических воздействий, изменяющих гемодинамику. Главнейшей и наиболее распространенной из этих проб является проба с гипервентиляцией. Гипервентиляция проводилась обычно в конце исследования. Суть её сводилась к тому, что обследуемому предлагали глубоко, ритмично дышать в течение 3 мин, обращая внимание на то, чтобы глубина

вдоха и полнота выдоха были максимальными. Для достижения максимального выдоха обследуемому предлагалось выдыхать так, как при надувании мяча. Частота дыхания не слишком высокая (обычно в пределах 16-20 в 1 мин). Регистрацию ЭЭГ начинали по меньшей мере за 1 мин до начала гипервентиляции и вели в течение всей гипервентиляции и ещё не менее 3 мин после её окончания.

Указанные пробы представляют собой основные функциональные нагрузки, предъявляемые стандартно в процессе исследования ЭЭГ.

Статистический анализ влияния сочетанной терапии на биоэлектрическую активность головного мозга пациентов проводили с помощью вычисления изменений мощности спектров в диапазоне дельта-, тета-, альфа- и бета-частот следующими методами:

- вычитания, при котором из суммарной мощности спектра энцефалограммы, зарегистрированной после воздействия ММ-излучения, с использованием компьютерной программы статистической обработки ЭЭГ вычитали суммарную мощность спектра фоновой электроэнцефалограммы с выведением результатов в абсолютных единицах мощности спектра;

- вычисления величин коэффициента Стьюдента со знаком, полученных при сравнении суммарной мощности спектра энцефалограммы, зарегистрированной после воздействия ММ-излучения (М1) и суммарной мощности спектра фоновой электроэнцефалограммы (М2) с выведением стьюдентовских оценок мощности спектра со знаком путем компьютерной программы статистической обработки ЭЭГ.

Сравнительный статистический анализ когерентности различных групп с использованием параметрических критериев (критерий Стьюдента) проводили с использованием нормализованных коэффициентов когерентности,

позволяющих привести эту случайную величину к распределению Гаусса.

Кроме того, для оценки эффективности лечения использовался также метод нелинейной динамики для обработки биоэлектрической активности коры головного мозга, который основывается на теории хаоса и является одним из самых современных и корректных методов анализа ЭЭГ.

В настоящее время хаос определяется как непредсказуемое поведение в детерминистической системе, т.е. это внешне лишённое законов поведение, тотально контролируемое детерминистическими законами.

Важные свойства хаотических детерминированных систем:

1) склонность к бифуркациям, т.е. к быстрым изменениям динамики систем;

2) критическая зависимость от начальных условий - невозможность длительных предсказаний.

Важным практическим результатом применения теории хаоса в научных исследованиях является получение количественных характеристик процессов динамики различных систем, недоступных традиционным методам анализа. Корреляционная размерность D_2 системы определяется как минимальное количество размерности пространства, в котором размещаются траектории, производимые системой.

Поскольку живые объекты являются открытыми динамическими системами, они обладают определенной мерой хаоса. Показатель D_2 является мерой хаоса, т.е. сложности процессов протекающих в системе - чем выше этот показатель, тем выше уровень хаоса в системе.

Анализ записей ЭЭГ с помощью метода нелинейной динамики с вычислением глобальной корреляционной размерности позволяет оценить изменения функционального состояния мозга в целом. Достоверное увели-

чение значений глобальной корреляционной размерности свидетельствует об усложнении деятельности мозга, в частности об активации коры.

Всех обследуемых разделили по виду ЭЭГ на "альфоидов" - имеющих в спектре выраженный пик в альфа-диапазоне, и людей с диффузной ЭЭГ - без альфа-пики в спектре. Такое разделение связано с тем, что в электромагнитной биологии и терапии экспериментально доказано, что эффект воздействия электромагнитного поля в значительной степени зависит от типа ЭЭГ.

Всем больным была выполнена магниторезонансная томография головного мозга. У большинства больных с симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией имелась умеренно выраженная, внутренняя и наружная, вероятно атрофическая, гидроцефалия и внутренняя асимметричная гидроцефалия.

Исследование неврологического статуса проводилось по общепринятой схеме [8] с детальной оценкой общемозговых и менингеальных симптомов, состояния черепных нервов, двигательной, чувствительной сферы, вегетативной нервной системы.

Статистический анализ данных проводился при помощи компьютерной интегрированной системы обработки "Statistica". Все нижеперечисленные положения и выводы базируются на данных статистического анализа подтвержденных с надежностью не хуже $p \leq 0,05$.

Графики и таблицы построены с помощью графического редактора Excel.

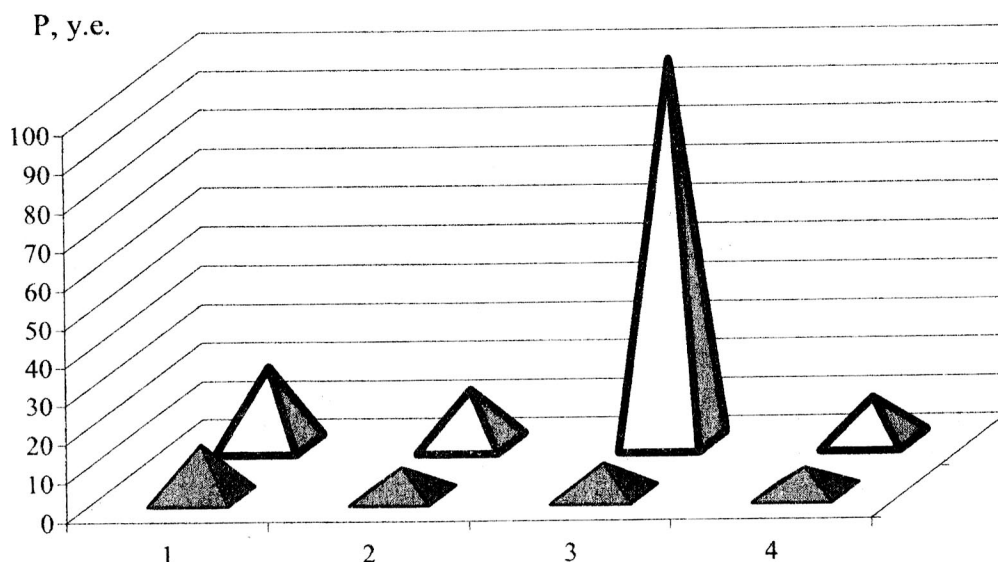
Результаты

В процессе выполнения работы было проведено сравнительное нейрофизиологическое обследование не только пациентов, получавших традиционное лечение (II группа) и больных,

которым сочетано с фармакологическим лечением проводили ММ-терапию (III группа), но и практически здоровых людей (I группа). Проанализированы спектры, корреляционная размерность D2 ЭЭГ, проведен анализ динамики клинической картины заболевания.

При визуальном анализе и после обработки методом спектрально-корреляционного анализа ЭЭГ обследо-

уемых в фоне до ФП было выявлено разделение как здоровых, так и больных по спектральному составу на "альфоидов" — имеющих выраженный пик в альфа-диапазоне и людей с диффузной ЭЭГ — без альфа-пика в спектре (рис. 1). Средний показатель общей мощности спектра (P) у всех обследуемых до функциональных проб (ФП) был принят за 100 %.



1 — дельта-диапазон; 2 — тета-диапазон, 3 — альфа-диапазон, 4 — бета-диапазон

Рис. 1. Пример распределения спектральной мощности P по различным диапазонам ЭЭГ у "альфоидов" (белые фигуры) и обследуемого с диффузным типом (темные фигуры)

При анализе реакций биоэлектрических потенциалов лиц контрольной группы без воздействия и при курсовом ММ-воздействии на стандартные функциональные пробы установлен характер ответа коры головного мозга на такой вид раздражения у здоровых испытуемых.

У испытуемых контрольной группы с альфоидным типом ЭЭГ без воздействия во время проведения функциональных проб показатель общей мощности спектра достоверно не изме-

нялся, однако, при этом наблюдались достоверные изменения по ритмам ЭЭГ — снижение показателя мощности дельта-ритма на 13% и альфа- на 26%, при незначительном увеличении тета- и существенном — бета-ритма (на 25%). После функциональных проб показатель общей мощности достоверно снижался — на 21%, при этом параметр мощности дельта-ритма достоверно уменьшался на 26%, тета-ритма на 16%, альфа- на 23 и бета- на 20%.

У здоровых испытуемых с диффузным типом ЭЭГ без воздействия во время и после функциональных проб показатель общей мощности спектра достоверно не изменялся. Тем не менее, во время функциональных проб происходило достоверное снижение альфа-ритма – на 17% и одновременно повышение бета-ритма на 20%, при этом показатели мощности ритмов в дельта- и тета-диапазонах достоверно не отличались от параметров до функциональных проб; после функциональных проб достоверно снижался только показатель мощности в альфа-диапазоне – на 15%.

Анализ показателя глобальной корреляционной размерности до воздействия у испытуемых контрольной группы с альфондным типом ЭЭГ как во время, так и после функциональных проб показал увеличение параметра D2 на 12 и 17% соответственно; а с диффузным типом ЭЭГ – снижение во время функциональных проб на 14% и восстановление этого параметра после функциональных проб до исходного уровня. После курса ММ-воздействия у испытуемых контрольной группы с альфондным типом ЭЭГ во время проведения функциональных проб показатель общей мощности спектра достоверно возрастал на 10%. При этом наблюдалось достоверное увеличение показателя мощности тета-ритма на 10%, альфа- на 13% и бета- на 18%. После функциональных проб показатель общей мощности также достоверно повышался на 9%. Это увеличение происходит за счет возрастания альфа-ритма – на 23 и бета-ритма – на 15%.

У здоровых испытуемых с диффузным типом ЭЭГ после курса ММ-терапии во время функциональных проб показатель общей мощности спектра также достоверно увеличивался на 10% за счет возрастания параметра спектральной мощности бета-диапазона на 34%. После функцио-

нальных проб показатели общей спектральной мощности и по диапазонам достоверно не изменялись. После курса ММ-воздействия показатель глобальной корреляционной размерности у испытуемых контрольной группы с альфондным типом ЭЭГ, как во время, так и после функциональных проб достоверно не изменялся, а у испытуемых с диффузным типом ЭЭГ – достоверно уменьшался во время функциональных проб на 10% и после функциональных проб восстановился до исходного уровня.

Таким образом, ответ коры головного мозга здоровых испытуемых на стандартные функциональные пробы после курса ММ-воздействия по сравнению с фоном состоит в том, что происходит повышение показателя общей мощности спектра за счет нарастания быстроволновых компонентов и оптимизация уровня сложности процессов протекающих в коре головного мозга (по показателю глобальной корреляционной размерности D2).

У фармакорезистентных больных II группы с криптогенной локально-обусловленной эпилепсией с альфондным типом ЭЭГ во время проведения функциональных проб наблюдалось достоверное ($p \leq 0,05$) и выраженное увеличение мощности дельта-ритма (на 52%), тета-ритма на 24% и бета-ритма на 13% при неизменном альфа-, тогда как после функциональных проб достоверно увеличивался показатель мощности дельта-, тета- и альфа-ритмов (на 32, 8 и 21% соответственно).

У фармакорезистентных больных II группы с криптогенной локально-обусловленной эпилепсией с диффузным типом ЭЭГ во время функциональных проб увеличение мощности в дельта- и тета-диапазонах составляет 16 и 22%, в альфа- и бета-диапазонах мощность не меняется, а после проведения функциональных проб увеличение мощности в дельта- и тета-диапазонах составляет 19 и 27%

соответственно, при этом мощность альфа-ритма уменьшается на 10 %, а бета-ритма увеличивается на 13%.

У фармакорезистентных больных II группы с симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией с альфоидным типом ЭЭГ во время проведения функциональных проб мощность дельта-ритма не изменилась, тета-ритма увеличилась на 12%, альфа – уменьшилась на 10% и бета-ритма увеличилась на 11%, тогда как после функциональных проб достоверно увеличивается показатель мощности дельта-, тета-, альфа-ритмов и бета-ритмов (на 20, 25, 10 и 19% соответственно).

У фармакорезистентных больных II группы с симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией с диффузным типом ЭЭГ во время функциональных проб увеличение мощности наблюдается в дельта-, альфа и бета-диапазонах и составляет 19, 10, 25% соответственно, а в тета-диапазоне показатель мощности не изменяется. После проведения функциональных проб мощность в дельта-диапазоне падала на 15%, увеличивалась в тета- и альфа-диапазонах на 11 и 28% соответственно, при неизменном уровне мощности бета-диапазона.

Таким образом, анализ биоэлектрических характеристик коры головного мозга фармакорезистентных больных II группы позволяет по существенным различиям в характере ЭЭГ-реакций на проведение стандартных функциональных проб различать формы эпилепсии - симптоматическую посттравматическую от криптогенной.

У фармакорезистентных больных II группы с симптоматической посттравматической и криптогенной локально-обусловленной формой эпилепсии при традиционном медикаментозном лечении не произошло достоверных изменений ни среднего по группе значения показателя общей мощно-

сти спектра, ни показателей спектральной мощности быстрых и медленных ритмов по сравнению с фоном как спустя 2 месяца, так и через шесть месяцев от начала лечения ни у "альфондов", ни у лиц с диффузным типом ЭЭГ.

Использованные методы диагностики позволили выявить различия в реакциях биоэлектрических параметров коры головного мозга на проведение стандартных функциональных проб у здоровых и больных III группы с альфоидным и диффузным типом ЭЭГ, а также между фармакорезистентными больными с криптогенной и посттравматической локально-обусловленной формой эпилепсии.

У фармакорезистентных больных эпилепсией (III группа) при проведении стандартных функциональных проб наблюдается значительно более высокий уровень общей спектральной мощности по сравнению со здоровыми испытуемыми. У фармакорезистентных больных с криптогенной локально-обусловленной эпилепсией отмечается более высокий уровень медленноволновой активности, по сравнению с фармакорезистентными больными симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией при проведении функциональных проб, а после – отмечается обратная зависимость. У лиц с альфоидным типом ЭЭГ (как у здоровых, так и больных) видна более выраженная реакция на проведение стандартных функциональных проб по совокупности изменений в каждом частотном диапазоне спектра ЭЭГ по сравнению с людьми с диффузным типом ЭЭГ. При этом больные криптогенной локально-обусловленной эпилепсией с альфоидным типом ЭЭГ по сравнению с больными диффузным типом ЭЭГ отличаются более выраженной реакцией медленноволновой ритмики во время проведения функциональных проб (рис.2).

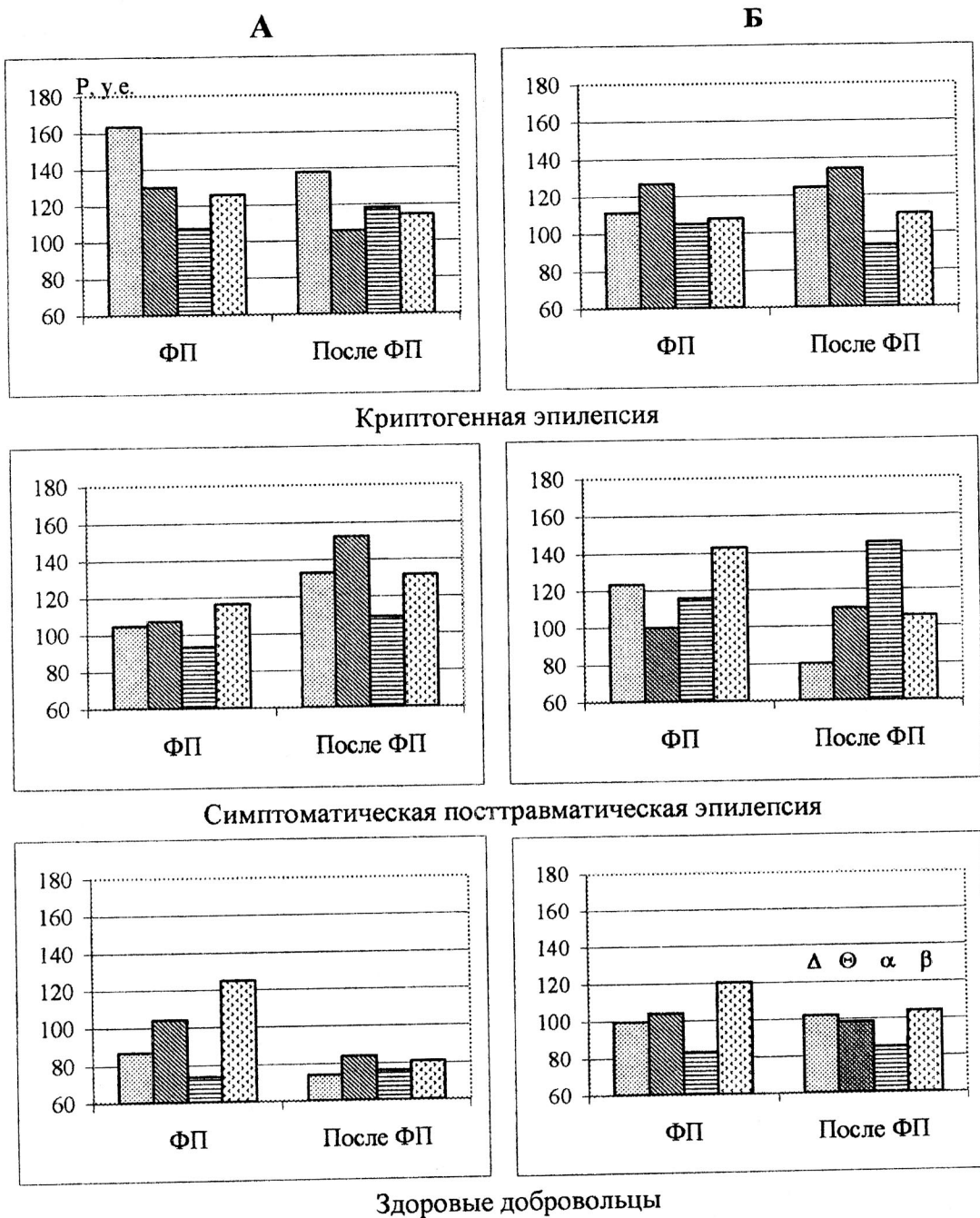


Рис. 2. Показатели спектральной мощности в дельта-, тета, альфа и бета-диапазонах на проведение стандартных функциональных проб у здоровых и больных с симптоматической посттравматической и криптогенной локально-обусловленной эпилепсией (III группа) в фоне; А - альфонидный тип ЭЭГ; Б - диффузный тип ЭЭГ

При сравнительном анализе показателя общей спектральной мощности и параметра глобальной корреляционной размерности D2 при проведении стандартных функциональных проб у

здоровых испытуемых и фармакорезистентных больных эпилепсией выявили, что мощность снижается у здоровых и повышается у больных при одновременном повышении D2 у здоровых и

снижении у больных. Стандартные функциональные пробы (гипервентиляция, фотостимуляция) являются нагрузкой для головного мозга и его естественная реакция у здоровых лиц выражается в некотором снижении общей спектральной мощности с одновременным увеличением сложности протекающих в коре процессов (увеличение показателя D2).

У больных, для которых стандартные функциональные пробы являются “провокацией” эпилептической активности, перестройка деятельности коры головного мозга выражается в снижении сложности процессов (уменьшение показателя D2) при одновременном нарастании показателя общей мощности спектра за счет увеличения представленности медленноволновой ритмики.

Таким образом, анализ ЭЭГ – по реакции показателя общей спектральной мощности и параметра глобальной корреляционной размерности D2 позволяет оценить функциональное состояние здоровых испытуемых и фармакорезистентных больных эпилепсией при проведении стандартных функциональных проб (рис. 3).

У фармакорезистентных больных с криптогенной локально-обусловленной эпилепсией с альфоидным типом ЭЭГ III группы после курса ММ-терапии наблюдается достоверное снижение медленноволновой активности, особенно выраженное в дельта-диапазоне, во время функциональных проб мощность в этом диапазоне ниже, чем у таких же пациентов II группы на 63% и практически приближается к реакции здоровых испытуемых; после функциональных проб мощность в дельта-диапазоне достоверно не отличается от таковой у здоровых и на 30% ниже, чем у пациентов II группы (рис. 4).

У больных III группы с криптогенной локально-обусловленной эпилепсией с диффузным типом ЭЭГ после курса ММ-терапии наблюдается более выраженное снижение медленноволновой активности: в дельта диапазоне при ФП

на 45% ниже, чем у пациентов II группы, и на 30% меньше, чем у здоровых; после ФП на 54 и 34%; в тета-диапазоне при ФП на 50% ниже, чем у пациентов II группы, и на 22%, чем у здоровых, после ФП на 62 и 35% соответственно (рис. 4).

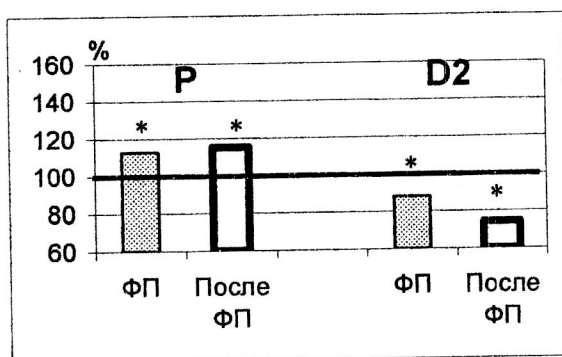
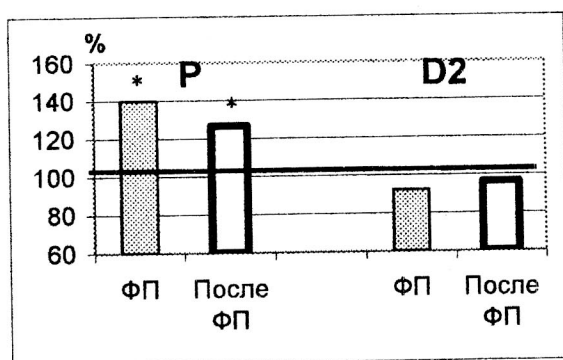
У фармакорезистентных больных с симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией III группы с альфоидным типом ЭЭГ после курса ММ-терапии наблюдается абсолютно сходная реакция со здоровыми испытуемыми по показателю мощности дельта-диапазона и заметное снижение показателя в этом диапазоне (на 30%) по сравнению со II группой только после ФП; в показателе мощности тета-ритма изменения заметны после ФП – на 20% ниже, чем у здоровых, и на 42% ниже, чем у пациентов II группы (рис. 4).

У больных III группы с симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией с диффузным типом ЭЭГ изменения параметра мощности медленноволновой ритмики более выражены при ФП: в дельта-диапазоне – на 20% меньше, чем у здоровых, и 30%, чем у больных II группы; в тета-диапазоне – на 11%, ниже, чем у здоровых, и на 14% меньше по сравнению с пациентами II группы (рис. 4).

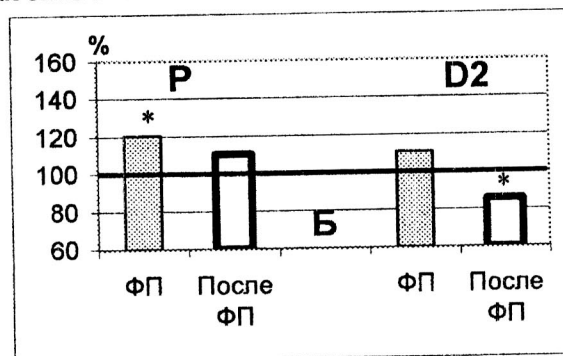
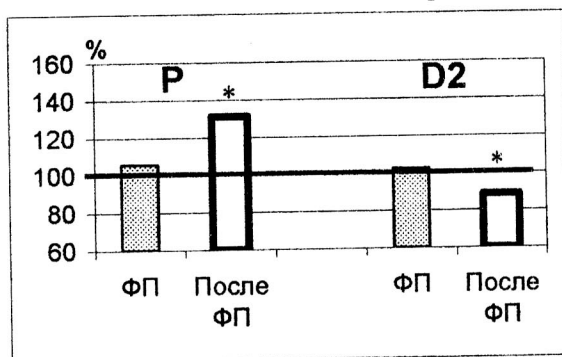
После курса ММ-терапии у больных III группы с криптогенной локально-обусловленной эпилепсией альфоидным типом ЭЭГ повышение показателя общей спектральной мощности при проведении стандартных функциональных проб происходит значительно меньше, чем у пациентов II группы и здоровых лиц, а показатель глобальной корреляционной размерности D2 при ФП изменяется как у здоровых и на 14% выше, чем у пациентов II группы, а после ФП этот показатель возрастает на 21% по сравнению с больными II группы и на 13% по сравнению со здоровыми.

А

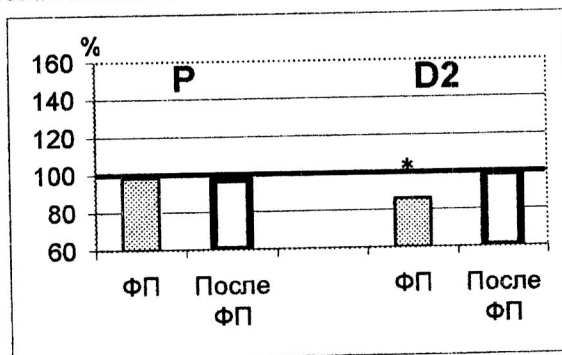
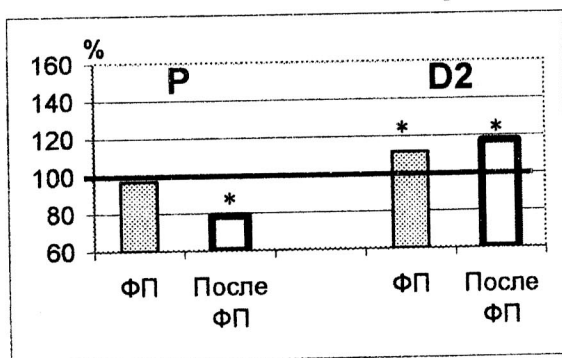
Б



Криптогенная эпилепсия



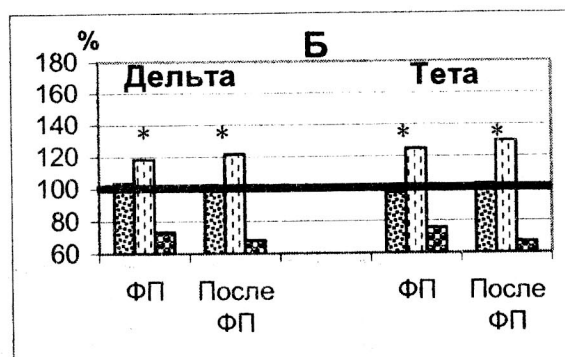
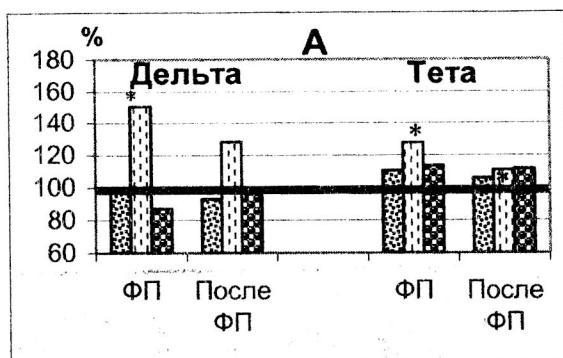
Посттравматическая эпилепсия



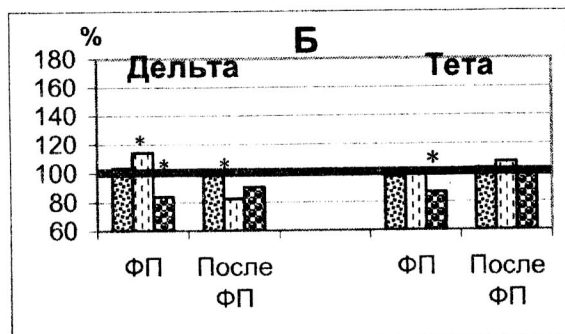
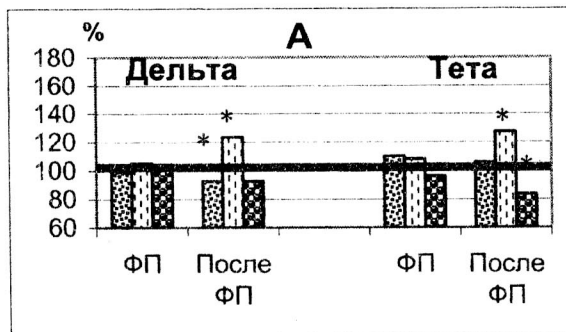
Здоровые добровольцы

А-альфоидный; Б-диффузный тип ЭЭГ

Рис. 3. Показатели общей спектральной мощности и глобальной корреляционной размерности D2 в % при проведении стандартных функциональных проб у здоровых и больных с криптогенной и симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией (III группа) в фоне. Данные нормированы к соответствующим значениям до функциональных проб (100%). Различия в значениях общей спектральной мощности и глобальной корреляционной размерности D2 при ФП и после ФП достоверны по сравнению со значениями до ФП при $p \leq 0,05$



Криптогенная эпилепсия



Симптоматическая посттравматическая эпилепсия

А-альфоидный; Б-диффузный тип ЭЭГ

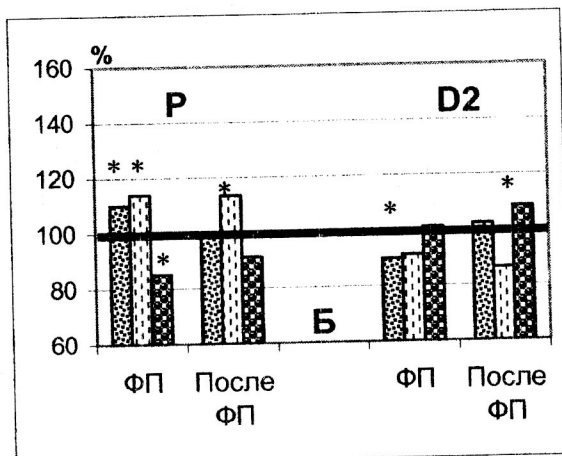
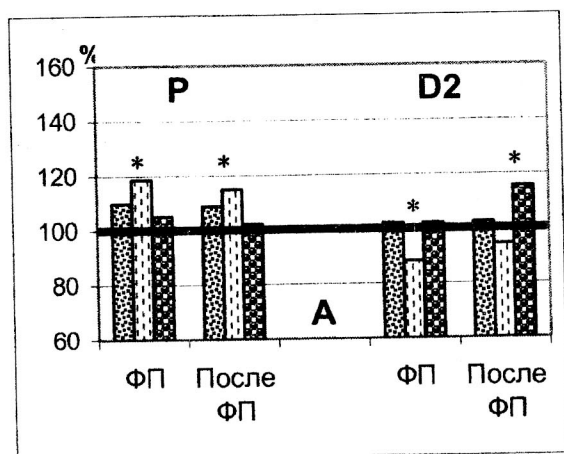
- Контрольная группа 1 (Здоровые испытуемые после курса ММ-терапии)
- ▨ Группа 2 (больные фармакорезистентной эпилепсией через 2 месяца)
- ▤ Группа 3 (больные фармакорезистентной эпилепсией после курса ММ-терапии)

Рис. 4. Показатели спектральной мощности в дельта-, тета-диапазонах в % на проведение стандартных функциональных проб у здоровых и больных с криптогенной и посттравматической локально-обусловленной эпилепсией после курса ММ-терапии, данные нормированы к соответствующим значениям до функциональных проб (100%). Различия в значениях общей спектральной мощности и глобальной корреляционной размерности D2 при ФП и после ФП достоверны по сравнению со значениями до ФП при $p \leq 0,05$

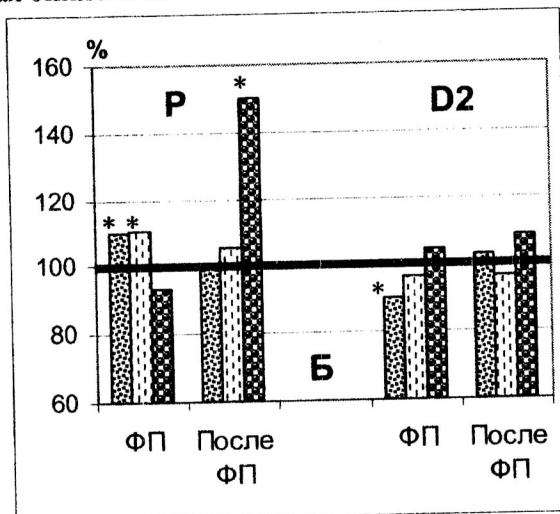
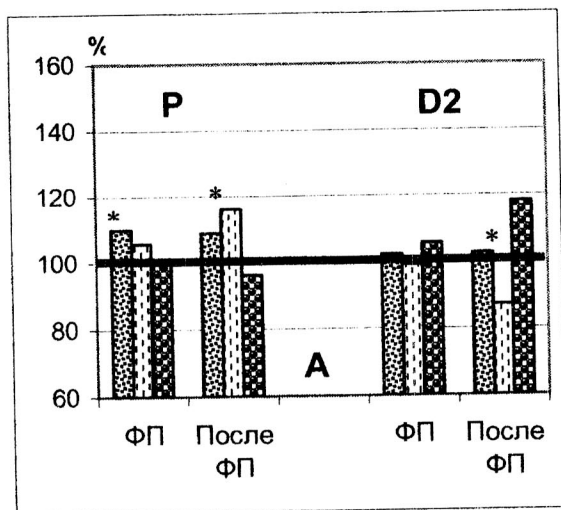
У больных III группы с криптогенной локально-обусловленной эпилепсией диффузным типом ЭЭГ показатель общей спектральной мощности значительно ниже (на 28%, чем во II группе, и на 25% по сравнению со здоровыми) при ФП, а после ФП – на 23 и 7% соответственно. Параметр D2 при ФП выше на 11% чем во II группе, и на 12% чем у здоровых, а после ФП сравним со здоровыми и выше, чем во II группе, на 22% (рис. 5).

У больных III группы с симптоматической посттравматической ло-

кально-обусловленной эпилепсией с альфоидным и диффузным типом ЭЭГ после курса ММ-терапии при ФП изменение показателя общей спектральной мощности происходит сходным образом с изменениями этого параметра у больных III группы с криптогенной локально-обусловленной эпилепсией, а после ФП показатель общей спектральной мощности у больных с диффузным типом ЭЭГ резко возрастает (на 50%) за счет сильного увеличения мощности в альфа-диапазоне.



Криптогенная эпилепсия



Симптоматическая посттравматическая эпилепсия А-альфоидный; Б-диффузный тип ЭЭГ

- Контрольная группа 1 (Здоровые испытуемые после курса ММ-терапии)
- ▨ Группа 2 (больные фармакорезистентной эпилепсией через 2 месяца)
- ▩ Группа 3 (больные фармакорезистентной эпилепсией после курса ММ-терапии)

Рис. 5. Показатели общей спектральной мощности и глобальной корреляционной размерности D2 в % при проведении стандартных функциональных проб у здоровых и больных с криптогенной и посттравматической локально-обусловленной эпилепсией после курса ММ-терапии. Данные нормированы к соответствующим значениям до функциональных проб (100%). Различия в значениях общей спектральной мощности и глобальной корреляционной размерности D2 при ФП и после ФП достоверны по сравнению со значениями до ФП при $p \leq 0,05$

Показатель глобальной корреляционной размерности D2 у больных с альфоидным и диффузным типом ЭЭГ симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией при проведении стандартных функцио-

нальных проб изменяется так же, как и у пациентов с криптогенной локально-обусловленной эпилепсией – особенно заметны изменения после ФП: у “альфоидов” D2 на 16% больше, чем у здоровых, и на 21%, чем у больных II груп-

пы, а у лиц с диффузной ЭЭГ на 6 и 12% соответственно (рис. 5).

Изменения нейрофизиологических реакций на проведение стандартных функциональных проб у фармакорезистентных больных эпилепсией при комбинированном лечении являются отражением положительной динамики клинической картины больных.

Проблема снижения количества приступов является главной задачей

при лечении больных эпилепсией. ММ-терапия как раз и является одним из методов, который позволяет эту задачу решать. Так, после курса ММ-терапии, у больных криптогенной локально-обусловленной эпилепсией с альфойдным типом ЭЭГ число приступов снизилось на 43,3%, а с диффузным – на 30,3%; через 6 месяцев эти цифры составили 24,6 и 7% соответственно (рис. 6).

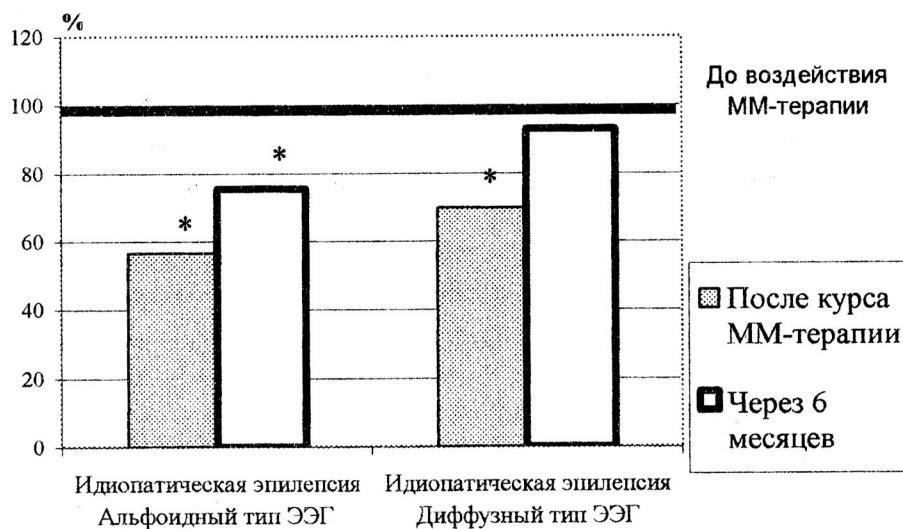


Рис. 6. Влияние ММ-волн на частоту приступов у больных с криптогенной локально-обусловленной фармакорезистентной эпилепсией. Различия до- и после лечения достоверны при $p \leq 0,05$

Более впечатляющие результаты наблюдались у больных симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией: у пациентов с альфойдным типом ЭЭГ после курса ММ-терапии число приступов снизилось на 66,7%, с диффузным типом ЭЭГ на 54,6%; через 6 месяцев у этих больных ухудшение было незначительным – 58,4 и 45,5% соответственно (рис. 7).

Таким образом, применяя ММ-терапию сочетано с традиционным медикаментозным лечением у фармакорезистентных больных эпилепсией удалось добиться значительного снижения частоты приступов.

Проведенные нами исследования убедительно свидетельствуют о том, что использование ММ-терапии в комбинированном лечении является эффективным методом при лечении эпилепсии. Особенно актуально использование ММ-терапии фармакорезистентных больных со вторично генерализованными приступами, для которых этот метод может стать единственной возможностью возвращения к полноценной жизни.

ММ-терапия, как метод лечения, впервые была применена на практике в нашей стране, она является плодом труда многих российских ученых,

работавших на стыке наук. ММ-терапия имеет хорошее аппаратное обеспечение, разработанные методики

лечения и опирается на многолетние исследования механизмов влияния ММ-излучения на живые системы [8].

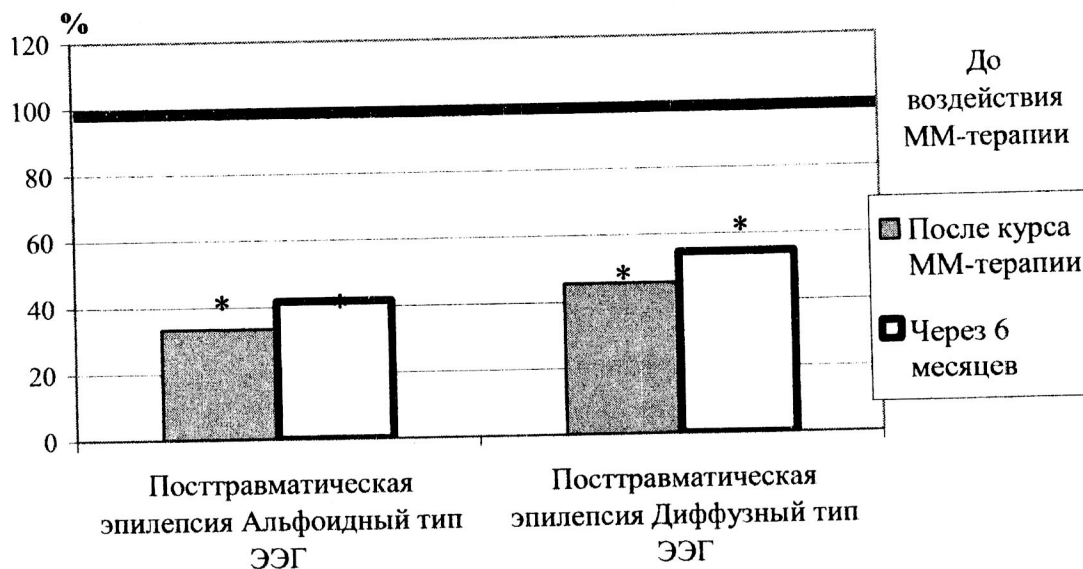


Рис. 7. Влияние ММ-волн на частоту приступов у больных с симптоматической посттравматической локально-обусловленной фармакорезистентной эпилепсией. Различия достоверны при $p \leq 0,05$.

Выводы

1. Во время проведения экспериментальных исследований у *здоровых добровольцев* в контрольной группе I с альфоидным типом ЭЭГ во время функциональных проб наблюдается достоверное снижение показателя мощности дельта- и альфа-ритмов на 13% и 26% соответственно, при незначительном увеличении тета- и существенном бетаритма (на 25%); тогда как после функциональных проб показатель мощности дельта-, тета-, альфа- и бетаритмов достоверно снижается на (26, 16, 23 и 20% соответственно); в то же время у *добровольцев* контрольной группы с диффузным типом ЭЭГ во время функциональных проб наблюдается достоверное снижение альфа-ритма (17%) при одновременном повышении бетаритма на 20%, при этом показатели мощности ритмов в дельта- и тета-диапазонах достоверно не отличаются от фоновых па-

раметров, а после функциональных проб достоверные изменения касаются только альфа-диапазона – снижение показателя мощности достигает 15%, т.е. остается таким же, как при проведении функциональной пробы.

2. Используемые методы диагностики позволяют по характеру динамики биоэлектрической активности коры головного мозга на проведение стандартных функциональных проб выявить различия между фармакорезистентными больными с *посттравматической и криптогенной локально-обусловленной формой эпилепсии*

3. У фармакорезистентных больных в *группе контроль II с криптогенной локально-обусловленной эпилепсией* с альфоидным типом ЭЭГ во время проведения функциональных проб наблюдается достоверное ($p \leq 0,05$) и выраженное увеличение мощности дельта-ритма (на 63%), тета-ритма на 30% и бетаритма на

25%, тогда как после функциональных проб достоверно увеличивается показатель мощности дельта-, альфа- и бета-ритмов (на 37, 17 и 14% соответственно); в то же время у больных с диффузным типом ЭЭГ при проведении функциональных проб увеличение мощности в дельта- и тета-диапазонах составляет 11 и 26%, а после – 24 и 34% соответственно, при этом достоверных изменений бета-ритма не наблюдалось.

4. У фармакорезистентных больных, получавших ММ-терапию, с *криптогенной локально-обусловленной эпилепсией* с альфондным типом ЭЭГ после курса ММ-терапии во время и после функциональных проб наблюдается достоверное снижение медленно-волновой активности, особенно выраженное в дельта-диапазоне, а также снижение показателя мощности в бета-диапазоне; тогда как у больных с диффузным типом ЭЭГ наблюдается более выраженное снижение медленно-волновой активности при сходной динамике в альфа- и бета-диапазонах.

5. У фармакорезистентных больных в *группе контроль II* с *симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией* с альфондным типом ЭЭГ, во время проведения функциональных проб достоверных изменений в показателе мощности дельта- и тета-ритмов не отмечалось, а в бета-диапазоне наблюдалось увеличение мощности на 16%, тогда как после функциональных проб показатели мощности в дельта-, тета- и бета-диапазонах увеличивались соответственно на 32, 53 и 31%; в то время как у больных с диффузным типом ЭЭГ наблюдается иная картина: во время проведения проб мощность в дельта-, альфа- и бета-диапазонах увеличивалась соответственно на 23, 15 и 43%, а после проб снижается в дельта-диапазоне, незначительно увеличивается в тета- и бета-диапазоне и существенно возрастает в альфа-диапазоне – на 45%.

6. У фармакорезистентных больных, получавших ММ-терапию, с *симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией* с “альфондным” типом ЭЭГ после курса ММ-терапии как во время, так и после функциональных проб наблюдается снижение показателя мощности дельта-, тета- и бета-ритмов при отсутствии изменений в альфа-диапазоне, в то время как у больных с диффузным типом ЭЭГ изменения в медленно-волновой области ЭЭГ аналогичны, в альфа-диапазоне наблюдается достоверное и резкое увеличение показателя мощности, а после функциональных проб и в бета-диапазоне.

7. Анализ показателя глобальной корреляционной размерности D2 свидетельствует о том, что наиболее достоверные выраженные позитивные изменения функционального состояния мозга наблюдаются у больных с “альфондным” типом ЭЭГ, как при *симптоматической посттравматической*, так и *криптогенной локально-обусловленной эпилепсии*, причем у больных с *симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией* эти достоверные изменения сохраняются и через 6 месяцев после проведения курса ММ-терапии, что подтверждается клиническими проявлениями.

8. Применение ММ-терапии в комбинированном лечении фармакорезистентных больных существенно улучшило клиническую картину; что выразилось, в первую очередь, в снижении количества приступов: у больных *криптогенной локально-обусловленной эпилепсией* от 30,3 до 43,4%, у больных *симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией* от 54,6 до 66,7% после курса ММ-терапии, а спустя 6 месяцев от 7 до 24,6% и от 45,5 до 58,4% соответственно; при этом динамика нейрофизиологических характеристик соответствует клинической картине.

Практические рекомендации

1. Использование такого показателя ЭЭГ как глобальная корреляционная размерность D2 позволяет, в качестве вспомогательного метода, подтвердить наличие заболевания эпилепсии у человека.
2. Предложенные в работе методы диагностики позволяют верифицировать форму локально-обусловленной эпилепсии у пациентов – симптоматическую посттравматическую или криптогенную.

3. Определение типа ЭЭГ активности пациента (альфоидного или диффузного) позволяет прогнозировать эффект лечения.
4. Применение ММ-терапии в сочетании с фармакологическими методами позволяет повысить эффективность лечения фармакорезистентных больных со вторично-генерализованными приступами как с симптоматической посттравматической локально-обусловленной эпилепсией, так и с криптогенной.



Литература

1. **Гусев Е.И., Бурд Г.С.** Эпилепсия – М., 1994, 63 с.
2. **Карлов В.А.** Судорожный эпилептический статус, Решенное и нерешенное – Неврол. ж., 2000, №3, с. 4-8.
3. **Тойтман А.А., Тойтман О.А.** Клинико-эпидемиологическая характеристика эпилепсии в Еврейской автономной области – Журн. неврол. и псих., 2000, №9 с. 45-47.
4. **Hauser N.A.** Recent development the epidemiology of epilepsy - Acta Neurol, Scand, 1995, Suppl, 162, p. 17-21.
5. **Oliveros J.A.** Prognosis of status epilepticus – Neurologia, 1997, vol.12, Suppl, 6, p. 74-81.
6. **Зенков А.Р., Ронкин М.А.** Функциональная диагностика нервных болезней – М.: Медицина, 1991, 640 с.
7. **Гусев Е.И., Белоусов Ю.Б., Гехт А.Б.** Лечение эпилепсии: рациональное дозирование антиконвульсантов – Спб.: Речь, 1999, 201 с.
8. **Бецкий О.В., Кислов В.В., Лебедева Н.Н.** Миллиметровые волны и живые системы – М.: САЙНС-ПРЕСС, 2004, 272 с.

The treatment and prophylaxis of secondary-generalized epileptic seizure in pharmacoresistant patients by EHF therapy in combination with antiepileptic drug

Pashnin A.G.

It has been experimentally shown and clinically approved the pathogenesis validity of EHF therapy and its course efficacy in the treatment of epileptic patients with secondary-generalized epileptic seizure. It was revealed that EHF therapy has enables to reduce drug dose. EHF therapy is one of the based methods for the treatment and prophylaxis of patient with pharmacoresistant epilepsy.

Терагерцовые волны и перспективы их применения



Козьмин А.С., Яременко Ю.Г.

Институт радиотехники и электроники РАН

В статье дается определение терагерцовых волн, рассматривается история освоения этого диапазона электромагнитного поля, применение и перспективы его использования.

Введение

Терагерцовыми (ТГц) волнами в последнее время называют электромагнитные волны в частотном диапазоне 10^2 - 10^4 ГГц (или с длинами волн от 3 мм до 30 мкм). Иногда (по аналогии с рентгеновскими лучами) их называют «Т-лучами». Они занимают большую часть электромагнитного спектра между ИК и микроволновыми диапазонами. Считается, что по сравнению с относительно хорошо изученными наукой и технически оснащёнными микроволновым, оптическим и рентгеновским-диапазонами достижения в области исследования и применения ТГц-излучения пока ограничены и остаются скорее на типично демонстрационном уровне, несмотря на богатые потенциальные возможности для технического применения.

В этой статье дан краткий обзор ТГц-исследований, обсуждаются успехи в получении ТГц изображений и их применении, рассматриваются главные препятствия, которые необходимо преодолеть для практического применения Т-лучей.

Но, прежде всего, отметим явное несоответствие уже широко распространённого термина с ранее принятыми. По длинам волн в спектре электромагнитного излучения уже давно используются другие названия. После всем привычных радиоволн в сторону уменьшения длины волны

последовательно расположены сантиметровый, миллиметровый, субмиллиметровый, дальний и ближний ИК-диапазоны, за которыми непосредственно следуют видимый свет и ультрафиолет. Эти диапазоны охватывают все длины волн, и между ними не существует никаких промежутков. Аналогично греческим приставкам «кило» - 10^3 , «мега» - 10^6 , «гига» - 10^9 вводится «тера» - 10^{12} . И, следовательно, к ТГц-диапазону следовало бы относить излучение с частотами от 10^3 до 10^6 ГГц, соответственно с длинами волн от 0,3 мм до 0,3 мкм, т.е. большую часть субмиллиметрового, весь ИК и даже видимого диапазонов. Чем вызвано такое несоответствие?

Прежде всего, тем, что субмиллиметровый и дальний ИК диапазоны действительно отставали как в области чисто физических исследований, так и в технической области. В этом диапазоне было трудно применить методы, идеи и технические решения, используемые и целиком себя оправдавшие при освоении соседних диапазонов. Освоения нового частотного диапазона всегда связано с успешным решением трёх технических задач: генерации электромагнитных колебаний, детектирования электромагнитного излучения (приёмники) и разработки волноведущих электродинамических структур или формирования соответствующих волновых пучков. Основой любого электровакуумного прибора (генератора) является элек-

тронный пучок, в котором электроны колеблются, совершая десятки миллиардов колебаний в секунду. В ТГц-генераторах они должны колебаться в сотни раз быстрее. Для этого надо невероятно тщательно проектировать и изготавливать такой прибор. Размеры замедляющих структур, с которыми взаимодействует электронный пучок, составляют десятки мкм, а точность их изготовления десятки нм. С аналогичными проблемами сталкивается и создатель ТГц-лазера. Атомы многих веществ, переходя из возбуждённого состояния в основное, испускают фотоны видимого или ИК диапазонов. Материалов, способных аналогичным образом генерировать ТГц-фотоны, в природе просто нет. Теоретически можно рассчитать и даже вырастить многослойный искусственный кристалл (его называют «суперрешёткой»), в котором электроны под действием приложенного напряжения начинают излучать ТГц-кванты в так называемом «квантово-каскадном режиме», перескакивая с одного слоя на другой.

В следующем разделе статьи мы более подробно изложим историю освоения этого удивительного диапазона. Здесь же мы только отметим, что настоящий всплеск интереса к этим исследованиям произошёл только 15 лет тому назад [1-4], когда были впервые получены ТГц-изображения. Эти материалы активно обсуждались на конференции по спектроскопии в г. Лидсе (Великобритания) и именно там впервые было сформировано понятие (ошибочное!) терагерцового диапазона в отмеченных выше границах. Но с тех пор это название прочно закрепилось в научной и технической литературе. Возник своего рода «терагерцовый бум» и широко распространилось мнение, что с этим направлением в 21 веке будут связаны многие открытия в фундаментальной физике, ТГц-исследования станут одной из

наиболее многообещающих областей физики и новых технологий, будут созданы уникальные приборы с использованием ТГц-изображений («Т-изображений») для самых разных отраслей – от медицины и химической идентификации молекул до пищевой промышленности и розничной торговли. Ученые всего мира занимаются разработкой новых источников ТГц-волн, пытаются удешевить их производство и внедрить эти устройства в промышленность. Этими соображениями и можно оправдать объединение субмиллиметрового и дальнего ИК диапазонов в один и сдвиг уже существовавшего понятия – терагерцовые волны в новые частотные границы.

С чем связаны столь радужные надежды на возможное практическое освоение ТГц-волн? Прежде всего, с тем, что ТГц-волны удивительно сочетают в себе лучшие качества своих соседей (электромагнитных волн соседних диапазонов). Будем в данной работе, как это сейчас принято, понимать под ТГц волнами вышеупомянутый частотный диапазон 10^2 - 10^4 ГГц. Во всяком случае термины – «Т-лучи», «Т-изображения» и даже «Т-спектроскопия» действительно удобны.

Как и радиоволны, они легко проникают сквозь многие непрозрачные твёрдые материалы (только не через металлы!). Коэффициент поглощения этих материалов в ТГц-диапазоне много меньше поглощения в ИК и видимом свете. К сожалению, коэффициент поглощения воды и других водосодержащих сред (в частности биологических тканей, в том числе тканей человеческого организма) в ТГц-диапазоне такой же большой, как и в миллиметровом диапазоне, что не позволяет надеяться на получение чётких изображений внутренних органов человека, сравнимых по контрастности с рентгеновскими снимками. Пространственное разрешение ТГц из-

лучения (согласно критерию Аббе) значительно меньше пространственного разрешения миллиметровых радиоволн.

Как и свет, их ТГц-волны можно легко фокусировать, использовать принципы геометрической оптики при конструировании волноведущих трактов. В то же время они испытывают гораздо меньшее Рэлеевское рассеяние $\sim \lambda^{-4}$, чем световые волны ближнего ИК или видимого диапазонов.

Т-лучи имеют несколько преимуществ по сравнению с рентгеном – главным из них является то, что энергия фотона (например, 4 мэВ для 1 ТГц) очень мала и не подвергает биологическую ткань вредному облучению [5]. Для сравнения типичная энергия фотона рентгена составляет \sim кэВ, что в 10^6 раз больше. Далее микроволновые и рентгеновские изображения просто модулированы по плотности, а изображение в Т-лучах также предусматривает передачу спектроскопической информации в пределах ТГц-частот. Уникальные вращательные, вибрационные и трансляционные спектры материалов (молекул, радикалов и ионов) проявляются в ТГц-отклике и обеспечивают информацию, которая вообще отсутствует в миллиметровом, оптическом или рентгеновском изображениях. В принципе, эти отклики на ТГц частотах характерны для каждой молекулы, как отпечатки пальцев для человека. Эта информация о конформационных переходах тесно связана с биологическими функциями молекул в тканях и клетках и труднодоступна другими методами.

История освоения ТГц диапазона

Отметим, что приоритет освоения ТГц диапазона безусловно принадлежит советским и российским учёным. Так, ещё в конце XIX века известный русский физик П.Н. Лебедев впервые

получил генерацию электромагнитных волн в 3 мм диапазоне и даже провёл измерения коэффициентов двойного лучепреломления кристаллов серы для этих волн. Тогда же он указал, что «волны с $\lambda = 3 - 0.1$ мм соответствуют молекулярным колебаниям материи» [6].

Наиболее распространённые когерентные генераторы в области миллиметрового диапазона – перестраиваемые широкополосные ЛОВ (лампы обратной волны) с магнитной фокусировкой, созданные в СССР под руководством акад. Н.Д. Девяткова и проф. М.Б. Голанта [7-8] \sim в 1960 г, долго были единственными в мире и перекрывали диапазон до 75 ТГц. При попытках продвинуться в более высокочастотный диапазон разработчики столкнулись с трудностями, вызванными уменьшением геометрических размеров и ужесточением допусков при их изготовлении, возрастанием омических потерь в связи с уменьшением толщины скин-слоя, проблемами с теплоотводом, возрастанием плотности тока в электронных пучках и увеличением магнитных полей, требуемых для их фокусировки. Тем не менее подобные ЛОВы были успешно разработаны, осуществлено их серийное производство и ими был перекрыт весь субмиллиметровый диапазон, вплоть до 1,3 ТГц [9]. (Заметим, что в логарифмическом масштабе это составляет больше половины всего ТГц диапазона). Гораздо позже подобные лампы стали выпускать во Франции, однако, они значительно уступают отечественным ЛОВ по диапазонам перестройки и генерации [10].

Большим вкладом в освоение субмиллиметрового диапазона явились достижения в разработке низкотемпературных приёмников на базе кристаллов InSb [11], а также широкополосных полупроводниковых детекторов ($\Delta f > 2$ ТГц), работающих при комнатной тем-

пературе (Томск, тип 3А138В3) [13].

Тогда же в 60-х годах в ИРЭ АН УССР, г. Харьков и в ИРЭ АН СССР, г. Фрязино были разработаны квазиоптические тракты, также перекрывающие весь субмиллиметровый диапазон [12, 14-15].

Значительные успехи были достигнуты и по другим направлениям. Так, при разработке полупроводниковых приборов на основе кремния и арсенида галлия (лавинно-пролётные диоды, диоды Ганна и их разновидности) была достигнута предельная частота 0,8 ТГц. Позднее были разработаны лазерные источники на основе использования квантовых переходов в молекулах газов H_2O , D_2O , HCN , CO_2 и др.

Большие значения мощности во всём ТГц-диапазоне как в непрерывном, так и в импульсном режимах были получены при использовании новых принципов генерации – лазеры на свободных электронах, релятивистские генераторы различных типов, гиротроны и дифракционные генераторы – оротроны, синхротронное излучение электронных пучков, получаемых на ускорителях.

Уже в те годы были начаты серьёзные спектроскопические исследования в ТГц-диапазоне [16]. Были разработаны уникальные конструкции спектрометров, практически перекрывающие весь ТГц-диапазон. Конечно, эти массивные, весьма дорогие и требующие очень квалифицированного обслуживания установки не были предназначены для широкого внедрения в промышленность, но они успешно использовались в радиоастрономических исследованиях отдалённых галактик, с их помощью были проведены детальные исследования внутримолекулярных движений больших молекул (в том числе полимеров), спектры колебаний кристаллов [17], составлены подробные атласы спектральных линий [18].

Важно отметить, что при проведении этих спектроскопических исследований большое внимание было уделено развитию новых методов получения и интерпретации спектров. В Фурье-спектроскопии излучение проходит не только через исследуемый объект, но и через интерферометр Майкельсона. На выходе формируется интерференционная картина, получаемая при перемещении подвижного зеркала. Фурье-анализ позволяет преобразовать интерферограмму в спектр, то есть представить сигнал как функцию частоты. Рабочий диапазон – от 20-40 до 1000 см^{-1} .

Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР-спектроскопия) осуществляется в широком спектральном диапазоне, но в ТГц-диапазоне спектры КР имеют сильный фон, который тем больше и шире, чем больше и тяжелее молекулы исследуемого вещества. Фон обусловлен свойствами вещества и может меняться для одного и того же вещества, в связи с этим спектры КР не обладают абсолютной повторяемостью.

Но, тем не менее, следует признать, что «терагерцовый бум» начался не с этих достижений, а только после появления работ [1-4], в которых были продемонстрированы как первые «Т-изображения», так и новые возможности их применения. За последнее десятилетие появились сотни работ (см. последние обзоры [19-21] и приведенные в них ссылки), основанных на последних достижениях фотоники.

Наиболее распространённым методом получения ТГц-излучения в этих работах является использование для предварительной накачки полупроводникового кристалла ИК импульсом ультрабыстрого титан-сапфирового твердотельного лазера со средней мощностью ~ единицы Вт, очень короткой длительностью импульса (~100 фс) и длиной волны ~800

им. Преобразование этого ИК излучения в ТГц происходит двумя методами:

1) Быстродействующие полупроводниковые фотопроводящие кристаллы являются переходными источниками токов и используются как излучающая антенна. [19-20]. Эффект генерации электромагнитного излучения поверхностью полупроводника объясняется динамикой образования фотоносителей: электрон-дырочных пар и их сверхбыстрым движением в приповерхностном электрическом поле. Согласно уравнениям Максвелла, возникающий в результате приповерхностный ток $J(t)$ вызывает генерацию электромагнитного импульса $E(t) \sim \partial J / \partial t$, обычно в виде одного колебания со спектром, определяемым Фурье-преобразованием его временной формы. Таким образом, поверхность полупроводника работает как динамическая фотопроводящая антенна, излучающая импульсы широкополосного электромагнитного излучения длительностью в сотни фемтосекунд. Спектр излучения в некоторых полупроводниках может простираться до 30 ТГц ($\lambda = 10$ мкм), а его центральная частота находится в районе 1-2 ТГц.

2) Нелинейные электрооптические кристаллы используются как выпрямительные элементы, причём весь спектр огибающей исходного ИК импульса попадает в ТГц-диапазон. Выпрямление может быть вызвано квадратичной нелинейностью (генерация разностной частоты [21-22]) или более высоким порядком нелинейности оптического процесса [23], зависящего от плотности мощности оптической накачки.

Вообще говоря, использование фотопроводимости обеспечивает получение Т-лучей более высокой мощности, чем использование оптического выпрямления. Это вызвано тем, что энергия лазерного импульса может быть

полностью запасена в фотопроводящей антенне в виде электростатической энергии, а затем теоретически превращена в энергию ТГц-импульса. Оптическое выпрямление превращает в ТГц-излучение только малую часть энергии оптической накачки ($\sim 10^{-6}$ - 10^{-3}), но спектр ТГц-излучения оказывается более широким.

Как при генерации Т-лучей оба метода – и фотопроводимость, и электрооптический метод могут использоваться для их детектирования. Фотопроводящая антенна впервые использовалась именно в качестве детектора [24]. Электрооптическое детектирование было продемонстрировано позже, в 95 году [25-26] и стало применяться во многих лабораториях из-за своей широкой полосы пропускания и способности создавать сдвинутые по времени Т-изображения (последовательные кадры). Суть электрооптического детектирования следующая – в двоякопреломляющем кристалле падающий плоскополяризованный луч превращается в луч с эллиптической поляризацией. Балансный детектор выделяет из этой эллиптической поляризации амплитуду и фазу Т-луча, прошедшего через исследуемый образец.

Применение ТГц-волн

Заметим, что в настоящее время уже продемонстрирован эффект применения ТГц-излучения в самых разнообразных областях. Как правило, это новые технологии и их широкое внедрение возможно только после создания дешёвых, технологичных, надёжных устройств. Вероятно, самый большой потенциал использования ТГц-волн находится в биомедицине. Может быть, в отдалённом будущем будет создано устройство для получения *in vivo* Т-изображений внутренних органов чело-

века наподобие рентгеновских снимков.

Гораздо раньше будет создана некая эндоскопическая система, представляющая собой Т-изображение с высоким пространственным разрешением, получаемое от некоего зонда, который может вводиться внутрь организма, с возможностью в реальном времени производить необходимый спектроскопический анализ. Создание такого инструмента обеспечивало бы для врача возможность более раннего обнаружения и характеристик многих болезней, понимания их биологии и оценки проводимого лечения. Врачи в настоящее время слишком грубо оценивают параметры болезни. В случае рака они имеют дело с созревшей опухолью, её анатомическим положением и больными клетками, извлекаемыми из организма с помощью биопсии. Диагностика болезни может быть значительно улучшена, если удастся обнаружить отклонения от нормы на молекулярном уровне, кинетику роста опухоли, клеточные маркеры опухоли или генетические изменения, провоцирующие её развитие.

Эта диагностика позволяла бы выявлять болезнь и давать оценку терапевтической эффективности на молекулярном уровне намного раньше появления фенотипических изменений. Такое Т-изображение живой ткани позволяло бы проводить изучение патогенеза в окружении неповрежденных живых микросистем, окружающих больное место. По сравнению с текущей клинической диагностикой такой Т-микроскоп имел бы огромный потенциал, особенно, если бы он давал трехмерное изображение больного органа и проводил мультиспектральный анализ его ткани. Картина опухоли, например, была бы восстановлена с использованием её многократных Т-изображений, сделанных под различными углами.

Новые методы могут заменить существующий метод биопсии, позволят не только обнаруживать, но и следить за развитием и распространением раковых клеток. Картина опухоли уже была получена, при использовании многократных снимков под различными углами. Этот метод создает биологически точную трехмерное изображение, которое дает исследователю картину поражения ткани. Методы ТГц-диагностики уменьшат число ненужных хирургических биопсий и ускорят быстроту постановки диагноза — с часов до минут. Перед постановкой диагноза, рентгеновские снимки обрабатываются и рассматриваются врачом лучевой диагностики, только после этого ставиться диагноз, ТГц-оборудование могло бы обеспечивать врачей немедленной картиной подозрительного роста или поражения тканей. Сейчас делаются попытки обнаружения с помощью такого оборудования рака костного мозга [27].

Даже большие по своим размерам устройства, которые нельзя использовать эндоскопически, т.е. поместить внутрь организма, помогли бы врачу диагностировать тяжёлые ожоги, рак кожи или груди, были бы полезны для обнаружения зубного кариеса или решения других стоматологических проблем. Вызывают интерес уже полученные Т-изображения различных биологических тканей: листьев [28], обожжённой кожи [19].

Низкие уровни энергии ТГц-кванта позволяют делать статические изображения, и даже наблюдать в реальном времени за биологическими клетками, тканями, обнаруживать изменения в структуре ДНК без вредного излучения, помогая ученым понять сложные процессы, происходящие при сворачивании белка и т.д. [29].

Молекулы любого вещества имеют свои уникальные колебательные,

вращательные и поступательные движения, и при условии совпадения их резонансных частот с частотами электромагнитного поля, дают информацию о молекулярной структуре образца. Резонансные частоты многих веществ лежат в пределах ТГц-диапазона. Например, резонансные частоты эритроцитов крови находятся в диапазоне 0,5-1 ТГц, хромосомы различной генной активности 0,75-15 ТГц [32].

Одно из возможных применений ТГц-томографии в области биомедицинской диагностики, где образцы состоят из одной поверхности отражения, но обладают сложной морфологией. Например, изучение поверхностных или подповерхностных свойств кожи, оценка глубины и серьезности ожога. Точное и неагрессивное исследование глубины ожога имеет большую клиническую ценность. Исследования в этом направлении описаны в работе [34].

Система ТГц-томографии, включая компьютерную томографию, дифракционную томографию и томографию с двойными линзами - являются новыми видами томографии основанными на свойствах ТГц-волн. С помощью пульсирующего ТГц-излучения исследуются диэлектрические свойства трехмерных структур и получаются двумерные секционные (покадровые) изображения объектов, подобно обычным методам компьютерной томографии рентгеновского типа. Измерительная ТГц-система, сопоставляя переданную амплитуду и фазу широкополосного ТГц-сигнала при различных углах падения, получает полную информацию об объекте и, соединяя секционные двумерные изображения, программно получает 3-х мерное [33].

Несомненно, после своего появления ТГц-системы будут востребованы как средства защиты: с их помощью бу-

дет осуществляться просмотр багажа и почтовых отправок, обнаружение химического и биологического оружия, взрывчатых веществ, керамического оружия, наркотиков, наблюдения за объектами сквозь стены помещений, экспертиза предметов искусств.

В производстве и торговле они будут полезны при выявлении подделок, брака в производстве, для проверки сохранности и качества товаров без нарушения упаковки.

Сравнивая полученные данные с информацией, хранящейся в предварительно составленной базе данных, можно идентифицировать вещества. Это открывает новые возможности, которые ни рентгену, ни ядерному магнитному резонансу не были доступны, и позволяет обнаруживать биологическое и химическое оружие, наркотики, пластиковые взрывчатки, вести непрерывный мониторинг экологической обстановки.

ТГц-волны проникают через сухие поверхности, такие как бумага, пластмассы, керамика, бетон и т.д. Эти вещества практически не поглощают ТГц-волны. Многие, не прозрачные в оптическом диапазоне и имеющие низкоконтрастные изображения при использовании рентгена, материалы могут быть легко обнаружены на основе анализа их коэффициентов отражения и преломления в ТГц-диапазоне [31].

Способность ТГц-волн проходить через стены позволяет использовать их для обнаружения людей при стихийных бедствиях и чрезвычайных ситуациях в разрушенных зданиях, при завалах и т.п. В последнее время ведутся разработки ТГц-устройств, которые могли бы работать на удаленных расстояниях от объектов. Недавно была изготовлена линза, с помощью которой можно отобразить трехмерный объект, расположенный на расстоянии до одного метра от излучате-

ля. Ученые активно пытаются увеличить это расстояние, чтобы применить ТГц-оборудование в системах безопасности, с помощью которых можно было бы видеть местоположения заложников, террористов и оружия через стены, обнаруживать мины [37].

Рассматривая эти потенциальные возможности применения ТГц-излуче-

ния, необходимо отдавать себе отчет в том, что за некоторыми из них стоят не реальные достижения в области формирования ТГц-изображений, а чисто пиаровские соображения и желание получить под рекламные обещания новое финансирование безусловно интересных ТГц-исследований.



Литература

1. **Wu Q., Hewitt T.D. and Zhang X.-C.** "Two-dimensional electro-optic imaging of terahertz beams" – *Appl. Phys. Lett.*, 1996, 69, p. 1026-8.
2. **Wu Q., Sun F.G., Campbell P. and Zhang X.-C.** "Dynamic range of an electro-optic field sensor and its imaging applications" – *Appl. Phys. Lett.*, 1996, 68, p. 3224-6.
3. **Mittleman D.M., Jacobson R.H. and Nuss M.C.** "T-ray imaging" – *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, 1996, 2, p. 679-92.
4. **Mittleman D.M., Hunsche S., Boivin L. and Nuss M.C.** "T-ray tomography" – *Opt. Lett.* 1997, 22, p.904-6.
5. **Smye S.W., Chamberlain J.M., Fitzgerald A.J. and Berry E.** "The interaction between THz radiation and biological tissue" – *Phys. Med. Biol.*, 2001, 46, p. 101-112.
6. **Лебедев П.Н.** "Шкала электромагнитных волн в эфире", доклад, 1901.
7. **Голант М.Б. и др.** " – ПТЭ, 1965, №4, с. 130, ПТЭ, 1969, №3, с. 321.
8. Лампы обратной волны миллиметрового и субмиллиметрового диапазона (под ред. акад. **Девяткова Н.Д.**) – М.: «Радио и связь», 1985, 135 с.
9. http://www.istok-mw.ru/Products/uhf/products5_1.htm
10. **Ирисова Н.А.** "Новые методы и приборы для исследования в субмм диапазоне" – Вестник АН СССР, 1968, №10, с. 63.
11. **Выставкин А.Н. и др.** Высокочувствительные приёмники электромагнитных излучений – В сб. "Проблемы современной радиотехники и электроники" – Под ред. акад. В.А. Котельникова – М.: «Наука», 1980, с. 164 - 191
12. **Мерзакри В.В. и др** Субмиллиметровая лучеводная спектроскопия и её применения, В сб. [11], с. 359-412.
13. История в лицах. 40 лет НИИПП. Гл. редактор И.Д.Романова – Томск: изд-во "Путешествие в Сибирь", 2004, 383 с.
14. **Апелетин В.Н., Ваганов Р.Б. и др.** Развитие теории и волноводной техники в ИРЭ РАН – Радиотехника, 2003, №11, с. 55-59.
15. **Кулешов Е.М. и др.** Квазиоптические радиоизмерительные устройства мм и субмм волн – Тезисы докладов Всесоюзного Симпозиума по распространению ММ и субММ волн, Горький, 1974, 198.
16. Техника спектроскопии в дальней ИК, субмм и мм областях спектра. Ed. D.H. Martin – М.: «Мир», 1970, 399 с.
17. **Martin D.H.** Advance in Physics, 1965, 19.
18. **Rothman L.S. et al** The HITRAN database: 1986 edition.
19. **Mittleman D.M et al** "Recent ad-

- vances in terahertz imaging" – Appl. Phys. B., 1999, 68, p.1085-1094.
20. **Zhang X.C.** "THz wave imaging: horizons and hurdles" – Phys. in Medicine and Biology, 2002, 47, p 3667-3677.
 21. **Davies A.G., Linfield E.H. and Johnston M.B.** "The development of terahertz sources and their applications" – PHYS. IN MEDICINE AND BIOLOGY, 2002, 47, p 3679-3689.
 22. **Greene B.I. et al.** "Far-infrared light generation at semiconductor surfaces and its spectroscopic applications" – IEEE J.Q.E., 1992, 28, p.2302-2312.
 23. **Planken P.C. et al.** "THz pulses from the creation of polarized electron-hole pairs in biased quantum wells" – Appl. Phys. Lett., 1992, 61, p.2009-2011.
 24. **Morris J. and Shen Y.R.** "Far-infrared generation by picosecond pulses in electro-optic materials" – Opt.Comm., 1971, 3, p. 81.
 25. **Yang K.P., Richards P.L. and Shen Y.R.** "Generation of far-infrared radiation by picosecond light pulses in LiNbO₃" – Appl. Phys. Lett., 1971, 19, p.320.
 26. **Cook D.J., Hochstrasser R.M.** "Intense THz pulses by four-wave rectification in air" – Opt.Lett., 2000, 25, p.1210.
 27. **Kollia Z. et al.** "Photodissociation dynamics of DNA bases" – Journal of Biological Physics, 29, 2003, p.149-158.
 28. **Auston D.H. and Smith P.R.** "Generation and detection of millimeter waves by picosecond photoconductivity" – Appl. Phys. Lett., 1983, 43, p. 631-3.
 29. **Wu Q. and Zhang X.C.** "Free-space electro-optic sampling of terahertz beam" – Appl. Phys. Lett., 1995, 67, p. 3523.
 30. **Nahata A., Auston D.H., Heinz T.F. and Wu C.** "Coherent detection of freely propagating THz radiation by electro-optic sampling" – Appl. Phys. Lett., 1996, 68, p.150.
 31. **Hu B.B. and Nuss M.C.** – Opt. Lett., 1995, 20, p.1716 - 8.
 32. **Бецкий О.В., Кирячук В.Ф., Кременецкий А.П., Лебедева Н.Н.** "ТГц волны и их применение" – Биомедицинские технологии и радиоэлектроника, 2005, №8, с.40-48.
 33. **Kind J., Schmuttenmaer C.** "Far-infrared dielectric properties of polar liquids probed by femtosecond THz pulse spectroscopy" – J.Phys.Chem., 1996, 100, p.10373.
 34. **Zhang X.C.** "Three-dimensional terahertz wave imaging" – Phil. Trans. R. Soc. A., 2004, 362, p. 283-299.
 35. **Niazi Z.B. et al.** – Burns, 1993, 19, p. 485.
 36. **Menikh A. et al.** "Label-Free Amplified Bioaffinity Detection Using Terahertz Wave Technology" – Biosensors and Bioelectronics, 2004, 20, p. 658-662.
 37. **Копасо Ф., Фэйтс Д.** "Терагерцовые волны" – Ломоносов, 2002, №5.

Terahertz waves and their perspective use

Kozmin A.S., Yaremenko Yu.G.

The definition, history and the use perspectives of Terahertz waves are presented in the paper.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ, ПРЕДСТАВЛЯЕМЫХ В РЕДАКЦИЮ ЖУРНАЛА "МИЛЛИМЕТРОВЫЕ ВОЛНЫ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ"

1. К публикации принимаются материалы, не предназначенные для публикации в других изданиях.
2. Статьи представляются в виде файлов форматов *Word6*, *Word7* (*.doc) на дискетах любой емкости с распечаткой в 1,5 интервала между строками (2 экз.). Их следует набирать в следующем порядке:

название статьи;
краткие сведения об авторах, включающие фамилию, имя, отчество и место работы,
аннотация;
текст статьи;
литература;
название, фамилии авторов и аннотация на английском языке.

3. Иллюстрации к статьям выполняются в виде отдельных файлов **форматов *Word6*, *Word7* (*.doc)** и представляются на отдельных листах в двух экземплярах (*допускаются только черно-белые*). На обороте каждого листа указываются название статьи, фамилии авторов и номер иллюстрации.

Рисунки выполняются в соответствии со следующими требованиями:
выбирать по возможности наиболее мелкий масштаб изображения (при условии читаемости);
буквенные и цифровые обозначения на рисунках по начертанию и размеру давать в соответствии с обозначениями в тексте статьи (см. образцы начертания символов в журнале);
размер рисунка — не более 15×20 см, желательно в портретной ориентации;
выносить текстовую информацию из рисунка в текст статьи или подрисовочные подписи (см. п.4).

Не допускается включение иллюстраций в файл с текстом статьи!

4. Все иллюстрации должны сопровождаться подрисовочными подписями (не повторяющими фразы-ссылки на рисунки в тексте), включающими в себя название иллюстрации и, при необходимости, условные обозначения. Подрисовочные подписи включаются в текст статьи в виде отдельных абзацев (Рис.1,2), расположенных в предполагаемых местах размещения иллюстраций.
5. Термины и определения, единицы физических величин, употребляемые в статье, должны соответствовать действующим ГОСТам.
6. Буквы в формулах необходимо размечать карандашом в первом экземпляре по следующим правилам:
прописные и строчные буквы, различающиеся только своими размерами, подчеркиваются двумя чертами: прописные — снизу, строчные — сверху. Нуль не подчеркивается;
греческие буквы подчеркиваются красным, векторы — синим (стрелки не употребляются), а матрицы — зеленым цветом;
латинские буквы подчеркиваются волнистой чертой снизу;
употребление рукописных, готических и русских букв, а также символов следует оговаривать на полях рукописи;
индексы и показатели степени следует отчеркивать дугами, направленными вниз или вверх соответственно для нижних и верхних индексов. Необходимо четко различать в индексах написание запятой, штриха и единицы.
7. Формулы в тексте следует нумеровать в круглых скобках (например, (2)), литературные ссылки в прямых — [2], подстрочные замечания отмечаются звездочками *.
8. При оформлении списка используемой литературы обязательно следует указывать авторов и название работы, источник, издательство, год издания, страницы.
9. На последней странице рукописи должны быть подписи всех авторов. Служебные и домашние адреса авторов с обязательным указанием почтового индекса и номеров телефонов печатаются на отдельной странице.
10. Редакция не ставит в известность авторов об изменениях и сокращениях рукописи, имеющих редакционный характер и не затрагивающих принципиальных вопросов.

Для оперативной работы редакции просим указывать в сведениях об авторах адрес Вашей электронной почты. Наш адрес E-mail: ehf@cplire.ru

